Aus dem Institut für Toxikologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. Remmer

EINFLUSS VON PHENOBARBITAL UND ÄTHANOL AUF DIE KINETIK VON PERAZIN UND SEINEN METABOLITEN IN GEWEBEN DER RATTE

Inaugural-Dissertaion
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wilfried Junginger
aus Tübingen

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546514_0075

Aus dem Institut für Toxikologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. Remmer

EINFLUSS VON PHENOBARBITAL UND ÄTHANOL AUF DIE KINETIK VON PERAZIN UND SEINEN METABOLITEN IN GEWEBEN DER RATTE

Inaugural-Dissertaion
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wilfried Junginger
aus Tübingen

1974

Dekan: Professor Dr.med. W. Schlote
1.Berichterstatter: Dozentin Dr.rer.nat.Dr.med. U. Breyer
2.Berichterstatter: Professor Dr.med. H. Remmer
Korreferent: Dozent Dr.med. L. Flohé

FOTO - SCHNELLDRUCK Hans - Joachim Köhler . 74 TÜBINGEN . Neue Strasse 11

Meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL UND METHODEN	6
2.1.	Tiere	6
2.2.	Substanzen	6
2.3.	Behandlung der Tiere	7
2.4.	Gewebeaufarbeitung zur Metaboliten-bestimmung	8
2.4.1.	Extraktion von 2 g Lebergewebe oder zwei Nieren (5 g Lebergewebe)	8
2.4.2.	Extraktion von Gehirngewebe	9
2.5.	Dünnschichtchromatographie	9
2.6.	Spektrophotometrische Messungen	11
2.7.	Rechnerische Auswertung der Meßwerte	12
2.8.	Wiedergewinnungsversuche	13
2.9.	Bestimmung der Blutalkoholkonzentration	13
2.10.	Statistik	13
3.	ERGEBNISSE	14
3.1.	Verlauf der Blutalkoholkonzentration nach einmaliger Gabe von 3 ml Äthanol/kg per os	14
3.2.	Wiedergewinnung der Metaboliten	14
3.2.1.	Wiedergewinnung von PPED	14
3.2.2.	Wiedergewinnung von PPMED	16
3.2.3.	Wiedergewinnung von PPA	18
3.3.	Metaboliten in der Leber nach akuter Gabe von Perazin	19
3.3.1.	Einfluß von Phenobarbital (Perazinapplikation per os)	19
3.3.2.	Wirkung einer Äthanolbelastung (i.p. Injektion von Perazin)	19

		Seite
3.4.	Metaboliten in der Leber nach akuter Gabe von DMP i.p.	24
3.5.	Elimination der Metaboliten nach einmaliger Gabe von PPED per os	26
3.6.	Metabolitenakkumulation bei chronischer Behandlung mit täglich 50 mg Perazin/kg per os	29
4.	DISKUSSION	34
4.1.	Besprechung der eigenen Ergebnisse und Gegenüberstellung mit der Literatur	34
4.1.1.	Ergebnisse aus 3.1.	34
4.1.2.	Ergebnisse aus 3.2.	35
4.1.3.	Ergebnisse aus 3.3.1.	37
4.1.4.	Ergebnisse aus 3.3.2.	39
4.1.5.	Ergebnisse aus 3.4.	40
4.1.6.	Ergebnisse aus 3.5.	41
4.1.7.	Ergebnisse aus 3.6.	44
4.2.	Kritik und Lücken der eigenen Methode	48
4.3.	Aussichten und Aussagen für weitere Untersuchungen	50
5.	ZUSAMMENFASSUNG	51
6.	LITERATURVERZEICHNIS	53

1. EINLEITUNG

Es ist bekannt, daß sich die Pharmakokinetik und Biotransformation eines Arzneimittels durch Einwirkung von zusätzlich verabreichten Pharmaka tiefgreifend verändern lassen (5, 14, 15, 17, 23).

Eine dominierende Rolle als Ort des Arzneimittelstoffwechsels spielt die Leberzelle, vor allem das glatte endoplasmatische Retikulum, welches Sitz der mischfunktionellen Oxidase mit dem Schlüsselenzym Cytochrom P450 ist (23). Dieses Enzym katalysiert sowohl N-Demethylierung als auch C-Hydroxylierung von Arzneimittel und anderen Fremdstoffen (10, 24). Als Prototyp einer Substanz, die die Kinetik anderer Fremdstoffe wirkungsvoll beeinflußt, gilt Phenobarbital. Durch Behandlung von Versuchstieren mit Phenobarbital läßt sich eine Zunahme an Volumen und Oberfläche des glatten endoplasmatischen Retikulums (39), ein Anstieg der mischfunktionellen Oxidase mit dem Schlüsselenzym Cytochrom P450 (25, 23), sowie eine Beschleunigung der mikrosomalen Fremdstoffoxidation in der Leber feststellen (22).

Eine große klinische Bedeutung muß diesem Effekt im Hinblick auf eine mögliche Beeinflussung der Pharmakokinetik von Arzneimitteln und der daraus resultierenden veränderten Pharmakodynamik zugeschrieben werden. So konnten CUCCINELL et al. (11) aufzeigen, daß sich durch Phenobarbitalgabe beim Menschen der Arzneistoffwechsel beschleunigt, es zu einer Erniedrigung des Plasmaspiegels von Diphenylhydantoin und Dicumarol kommt, wobei die Abnahme des Dicumarolspiegels direkt mit der Abnahme der Antikoagulantien-Wirkung dieses Arzneimittels korreliert. BURROWS et al. (8) berichteten von einem unter Nortriptylin-Medikation stehenden Patienten, bei dem nach zusätzlicher Barbituratgabe der Plasmaspiegel des tricyclischen Antidepressivum auf Null absank. Gerade psychiatrische Patienten erhalten aber sehr oft gleichzeitig mehrere Medikamente, unter denen sich vor allem auch Barbiturate befinden.

Auf der anderen Seite kennt man auch Eingriffe in den Abbau von Fremdstoffen im Sinne der Hemmung. Ein praktisch wichtiger Stoff, für den eine solche Wirkung nachgewiesen wurde, ist Äthanol (27, 35, 36, 38). Zur Diskussion steht ein kompetitiver Hemmungstypus, bei welchem es zu einer Bindung des Äthanols an das mikrosomale Haemoprotein und eine Verminderung von Cytochrom P450-abhängiger Reaktionen kommt (27, 28). Die Hemmung der Biotransformation ist an die Anwesenheit von Äthanol gebunden und scheint voll reversibel zu sein (34). SCHÜPPEL konnte sowohl in vitro (33) als auch bei der Ratte in vivo (31, 32, 35, 37) eine Hemmung Cytochrom P450-abhängiger Biotransformationen nachweisen. RUBIN erhielt bei Akutversuchen die gleichen Ergebnisse (27), fand jedoch bei chronischer Äthanolgabe eine Induktion des mikrosomalen Arzneimittel abbauenden Enzymsystems (26). FORREST et al. (13) konnten bei über der Hälfte ihrer chronisch mit Chlorpromazin behandelten Patienten nach Gabe von Äthanol in den folgenden 24 Stunden eine deutliche Abnahme der Ausscheidung von Chlorpromazin und seinen Metaboliten im Urin feststellen.

Die hier vorliegende Arbeit beschäftigt sich unter diesen genannten Gesichtspunkten mit pharmakokinetischen Studien an dem Neuroleptikum Perazin. Zur Pharmakodynamik sei erwähnt, daß Perazin als Piperazin-Phenothiazin-Derivat eine prompte und starke Wirkung auf Syndrome mit abnormer Antriebssteigerung, affektiver Spannung und Hyperkinese zeigt ohne jedoch das Bewußtsein wesentlich zu beeinträchtigen. Die gemischt paranoisch-halluzinatorischen Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis werden als die Domäne der Perazin-Therapie bezeichnet (12). Bemerkenswert ist die geringe Frequenz extrapyramidal-motorischer Störungen, obwohl die für eine ausreichende klinische Wirkung notwendigen Perazin-Dosen mit durchschnittlich 500 mg/die relativ

---

Taxilan, 10-[3'-(4"-Methyl-piperazinyl)-propyl]-phenothiazi
Chemische Fabrik Promonta, Hamburg

hoch liegen. Die in dieser Arbeit an Ratten applizierten Perazin-Mengen stellen - bezogen auf Kilogramm Körpergewicht - eine noch 7-fach höhere Dosierung dar.

Erste Untersuchungen über den Stoffwechsel von Perazin (PZ) wurden an Hand der Harnmetaboliten psychiatrischer Patienten durchgeführt (3). Sie ergaben, daß die überwiegende Menge der extrahierbaren Metaboliten durch diejenigen Reaktionen entsteht, die auch von anderen Phenothiazin-Pharmaka bekannt waren. Es handelte sich um die N-Demethylierung, die Einführung einer Hydroxylgruppe in das aromatische Ringsystem (gefolgt von einer Konjugation mit Glucuronsäure) und um Oxidationen zum Sulfoxid und N-Oxid. Außerdem wurden Kombinationen fast aller dieser Reaktionen beobachtet. Die Umsetzung von Perazin mit Rattenlebermikrosomen ergab bei kurzen Inkubationszeiten alle vier einfachen Metaboliten Desmethyl-perazin (DMP), Hydroxy-perazin, Perazin-Sulfoxid und Perazin-N-oxid (4). Waren die Tiere mit Phenobarbital vorbehandelt, so verlief die Demethylierung in den Mikrosomen erheblich schneller; die Sulfoxidation war leicht beschleunigt, während die aromatische Hydroxylierung und vor allem die N-Oxidation verlangsamt waren (5).

Ein Metabolit eines bisher unbekannten Typs wurde gefunden, als die Gewebe von chronisch mit Perazin behandelten Ratten aufgearbeitet wurden. Es zeigte sich, daß der Piperazinring in vivo abgebaut wird und daß dabei Ringspaltungsprodukte im Gewebe kumulieren (6, 7). Der Hauptmetabolit ist N-[3-(Phenothiazinyl-10)-propyl]-äthylendiamin (PPED), (siehe Abb. 1, S. 5). In geringerer Menge fand sich N-[3-(Phenothiazinyl-10)-propyl]-N'-methyl-äthylendiamin (PPMED, BREYER und KRAUß, unveröffentlicht). Schließlich wurde auch ein Metabolit gefunden, bei dem der Piperazinring bis auf eine Aminogruppe abgebaut ist, 3-(Phenothiazinyl-10)-propylamin (PPA). Alle drei Metaboliten konnten bei Inkubation in vitro nicht gefunden werden; wahrscheinlich

ist ihre Bildungsgeschwindigkeit zu gering. Die in Abb. 1 (Seite 5) angegebenen Stoffwechselwege sind durch Versuche mit den Metaboliten abgesichert. So wird nach Gabe von DMP im Gewebe PPED gefunden, aber nicht PPMED. Dieses tritt jedoch bei PZ-behandelten Tieren auf. Demnach kann der Piperazinring gespalten werden, ohne daß vorher eine Demethylierung erfolgt wäre. Wird PPED an Ratten appliziert, so scheiden diese das Sulfoxid von PPA im Harn aus (BREYER et al., in Vorbereitung), d.h. der Metabolit PPED - mit dem teilweise abgebauten Piperazinring - ist Zwischenstufe für den vollständigen Ringabbau.

In dieser Arbeit wurde die Kinetik der Gewebemetaboliten von Perazin bei der Ratte unter der Einwirkung von Phenobarbital und Äthanol untersucht. Es wurde versucht, aus den Ergebnissen abzuleiten, wie die in Abb. 1 angegebenen Stoffwechselwege durch die zusätzlichen Behandlungen beeinflußt werden. Dabei erstreckten sich die Versuche auf die akute und chronische Behandlung mit Perazin, die akute Verabreichung von DMP sowie auf die Elimination von PPED.

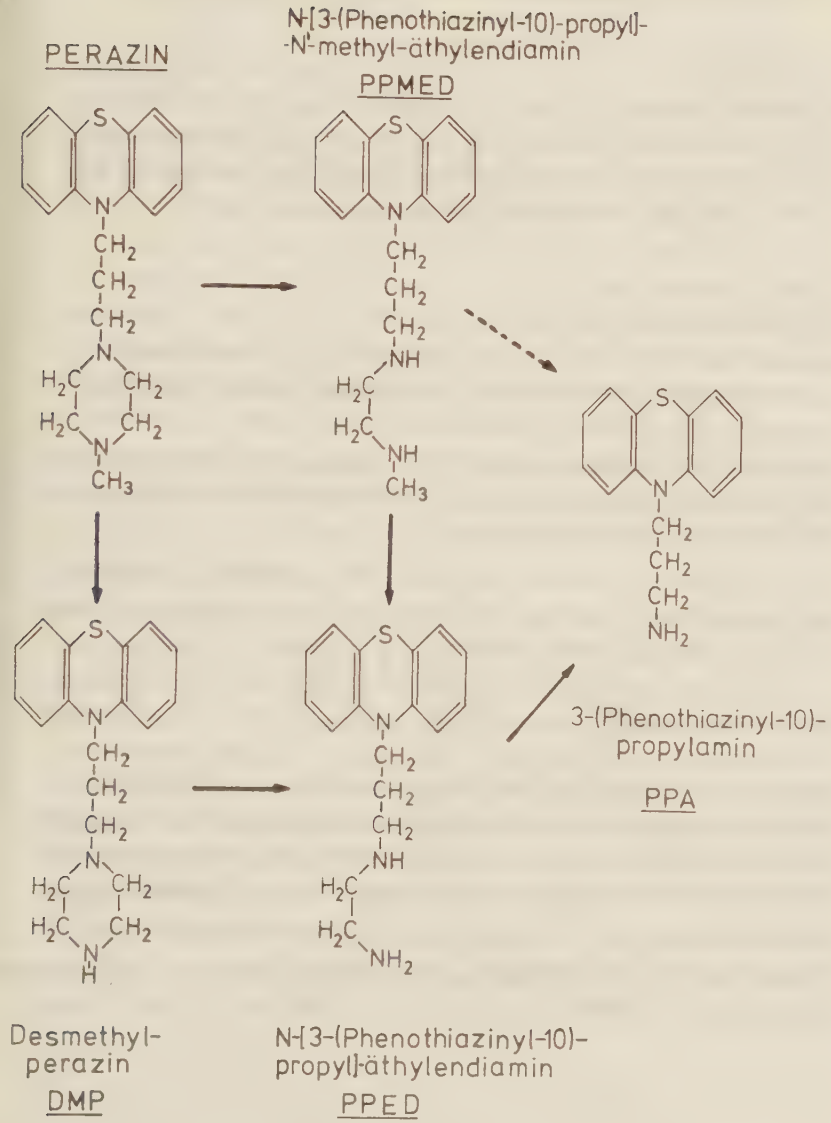


Abb.1: Abbau des Perazins und der im Gewebe auftretenden Metaboliten

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiere

Verwendet wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 230 g und 295 g. Während allen Versuchen hatten die Tiere freien Zugang zu dem Standardlaboratoriumsfutter und zu abgefülltem Leitungswasser.

2.2. Substanzen

Perazin-dimalonat und Phenothiazinyl-propylamin (PPA) wurden freundlichst von der Chemischen Fabrik Promonta, Hamburg, zur Verfügung gestellt.
PPED und DMP wurden von BREYER als Dimalonat synthetisiert und mir für die Tierversuche überlassen, ebenso PPMED für die Wiedergewinnungsversuche.

Die angegebenen Dosen an Perazin, DMP und PPED bedeuten die Menge freier Basen. Zur Umrechnung in Dimalonat wurden die folgenden Faktoren benutzt:

Perazin	1.61
DMP	1.64
PPED	1.70

Phenobarbital-Natrium und Äthanol absolut. wurden von E. Merck, Darmstadt, bezogen. Die angegebene Phenobarbitaldosis bedeutet die Menge freier Säure. Zur Umrechnung in das Natriumsalz wurde mit dem Faktor 1.1 multipliziert.

Zur Bestimmung der Alkoholkonzentration im Blut wurde die Biochemica Test-Combination, Blutalkohol UV-Test, Boehringer Mannheim, verwendet.

2.3. Behandlung der Tiere

Die Lösungen von Perazin, seinen Metaboliten und Phenobarbital wurden für die orale Applikation so angesetzt, daß ein Volumen von 0.5 ml/100 g Körpergewicht (KG) gegeben werden konnte. Äthanol wurde in einer Konzentration von 15 Vol% verabreicht, das bedeutet bei einer Einzeldosis von 3 ml Äthanol/kg eine Gabe von 2 ml/100 g KG. Die orale Behandlung erfolgte mit der Schlundsonde. Zur intraperitonealen Injektion wurden 50 mg Perazin (= 80.5 mg Dimalonat) bzw. 25 mg DMP (= 41 mg Dimalonat) in 2 ml H_2O gelöst, die injizierte Menge betrug 0.2 ml/100 g KG. Die Injektionen wurden nach der modifizierten Methode von LEWIS et al. durchgeführt (30).

Die Gabe der Phenothiazine fand immer morgens um 8 Uhr statt, die von Äthanol oder Phenobarbital erfolgte nie gleichzeitig, sondern in einem zeitlichen Abstand von wenigstens 1 Stunde.

Pro Versuch wurden drei Gruppen gebildet. Die Tiere der Kontrollgruppe bekamen nur Perazin, DMP oder PPED, die Tiere der Alkoholgruppe zusätzlich - je nach Versuchsanordnung - eine oder bei chronischer Behandlung täglich zwei Dosen von je 3 ml Äthanol/kg. Die Tiere der Phenobarbitalgruppe erhielten über den ganzen Versuchsverlauf zusätzlich zu den Perazin-, DMP- oder PPED-Gaben jeden Abend um 20 Uhr 50 mg Phenobarbital/kg per Schlundsonde, und zwar beginnend 2 1/2 Tage (60 Stunden) vor der ersten Gabe des Phenothiazins.

Die genauen Behandlungsschemata der einzelnen Versuche sind unter 3. Ergebnisse jeweils getrennt zu Beginn dargestellt.

2.4. Gewebeaufarbeitung zur Metabolitenbestimmung mod. nach BREYER (6)

Die Ratten wurden mit einer großen Schere decapitiert, Leber, Nieren und Gehirn entnommen, getrennt in Schnappdeckelgläsern aufbewahrt und sofort in Eis gekühlt. Entweder wurde das Gewebe anschließend gleich aufgearbeitet oder aber bei -20° C bis höchstens vierzehn Tage aufbewahrt.

2 g Lebergewebe und die Nierenpaare wurden nach derselben Methode und mit denselben Reagenzienmengen aufgearbeitet; bei der Extraktion aus 5 g Lebergewebe wurde ebenfalls die gleiche Methode angewandt, jedoch wurden entsprechend größere Reagenzienmengen benutzt. Bei der Aufarbeitung des Gehirngewebes wurden immer zwei Gehirne der gleichen Versuchsgruppe zusammengenommen und nach einem etwas abweichenden Verfahren extrahiert.

2.4.1. Extraktion von 2 g Lebergewebe oder 2 Nieren (in Klammern Angaben für 5 g Lebergewebe)

2 g (5 g) zerschnittenes Lebergewebe oder ein Nierenpaar wurden nach Zusatz von 5 ml (10 ml) 10% NaCl-Lösung in einem Plastikbecher mit einem Ultra-Turrax auf Stufe 6 eine halbe Minute homogenisiert, das Homogenat wurde in ein Zentrifugenglas mit Schliff umgeschüttet und Becher und Homogenisator mit 5 ml (10 ml) 10% NaCl-Lösung nachgewaschen. Das Homogenat wurde mit 0.24 ml (0.6 ml) 10% Natriumdesoxycholat-Lösung und 1.4 ml (3.5 ml) 25% Ammoniak gemischt und nach Zugabe von 10 ml (25 ml) 1,2-Dichloräthan (DCÄ) kräftig eine Minute geschüttelt. Nach 12 min. Zentrifugieren bei 4000 U/min. wurde die klare untere DCÄ-Phase mit einer 25 ml Pipette herausgesaugt und in einen Rundkolben filtriert. Die wässrige Phase wurde zweimal mit je 10 ml (20 ml) DCÄ nach dem gleichen Verfahren nachextrahiert.

Die vereinigten Extrakte wurden im Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck und einer Badtemperatur von 26 - 28° C eingedampft. Der Rückstand wurde in 2 ml DCÄ gelöst und mit einer Pasteurpipette in ein Zentrifugenglas mit Schliff pipettiert. Anschließend 2x Nachwaschen mit je 1 ml DCÄ. Die Lösung wurde ebenfalls im Rotationsverdampfer eingedampft.
Das Eindampfen, sowohl im Rundkolben als auch anschließend im Zentrifugenglas, sollte stets nur soweit erfolgen, daß noch ein kleiner Lösungsmittelrest zurückbleibt, da sonst der Rückstand pulvrig werden und im Verdampfer verstäuben könnte.

2.4.2. Extraktion von Gehirngewebe

Es wurden immer zwei Gehirne aus derselben Versuchsgruppe gemeinsam mit 6 ml 10% NaCl-Lösung in einem Ganzglas-Potter-Elvehjem-Apparat homogenisiert und zweimal mit je 3 ml 10% NaCl-Lösung nachgespült. Das Homogenat wurde in einem großen Zentrifugenglas mit 0.2 ml 10% Natriumdesoxycholat-Lösung und 1.2 ml 25% Ammoniak vermischt und nach Zugabe von 25 ml DCÄ kräftig 1 Minute geschüttelt. Weiter wurde wie bei der Aufarbeitung von 5 g Lebergewebe verfahren. Der Abdampfrückstand wurde jedoch mit 3x 1 ml Chloroform aus dem Rundkolben herausgelöst und diese Lösung durch Überblasen von Stickstoff in einem Wasserbad von 35° C auf 1/10 eingeengt.

2.5. Dünnschichtchromatographie nach BREYER (3) und (4)

Verwendet wurden mit Kieselgel GF 254 (E. Merck) beschichtete 20 x 20 cm große Glasplatten, welche stets durch 10 min. Erwärmen bei einer Temperatur von 105° C frisch aktiviert wurden. Die Leber- oder Nierengewebeextrakte wurden mit 0.12 ml Chloroform/Methanol (2:1) gelöst und

mit einer 100 µl-Pipette mit geschliffener Spitze als 4 cm breite Bande auf die Platte aufgetragen. Dabei wurde vom unteren Plattenrand ein Abstand von 1,5 - 2 cm eingehalten. Dann 2x Nachwaschen mit je 0.12 ml Chloroform/Methanol (2:1).

Die Gehirnextrakte wurden dagegen als Lösungen in Chloroform aufgetragen. Pro Platte wurden 2 oder 3 Extrakte sowie je nach Versuch 1 - 4 Vergleichssubstanzen aufgetragen. Die Platten wurden nun in $CHCl_3$/Isopropanol (40:4) vorgewaschen, indem man das Fließmittel bis zum oberen Plattenrand steigen ließ. Dabei lief die Hauptmenge der Lipide kurz hinter der Lösungsmittelfront, während die Phenothiazin-Derivate am Start blieben. Die Platten wurden nun 2 min. im Abzug getrocknet und zur Metabolitentrennung in Fließmittel A (Tab. 1) chromatographiert, wobei man die Front bis 7 cm unterhalb des oberen Plattenrandes steigen ließ. Die UV-absorbierenden Banden wurden unter 254 nm Licht markiert und nach Besprühen mit H_2O dest. die metabolitenhaltigen Kieselgelbanden mit einem Spatel von der Platte herausgehoben, in ein Zentrifugenglas gebracht und in 1 ml 2N Ammoniak suspendiert.

Tab. 1: R_F-Werte von Perazin und seiner Metaboliten in den verwendeten Fließmitteln

Substanzen	Fließmittel A			Fließmittel B	
	Isopropanol	32	ml	Aceton	27 ml
	Chloroform	16	ml	Isopropanol	21 ml
	25% Ammoniak	1.8	ml	1N Ammoniak	12 ml
	H_2O	2	ml		
Perazin	0.79			-	
PPA	0.63			-	
DMP	0.40			-	
PPED	0.30			0.56	
PPMED	0.30			0.30	

Nach Zugabe von 2 ml DCÄ und intensivem Schütteln mit einem Vortex-Mixer wurde 3 min. bei 3000 U/min. zentrifugiert und mit Pasteurpipetten die DCÄ-Phase in ein sauberes Zentrifugenglas pipettiert. Damit sich mitgenommene Spuren von Wasser und Kieselgel am Glas absetzen, kurzes Stehenlassen, dann umgießen in ein Zentrifugenglas mit Schliff. Dieser Arbeitsgang wurde mit weiteren 2 ml DCÄ wiederholt. Die so gewonnene klare DCÄ-Lösung dann im Schliffglas mit dem Rotationsverdampfer eindampfen.

Waren die Tiere mit Perazin behandelt worden, so enthielt die unterste Bande ein Gemisch von PPED und PPMED, das durch Rechromatographie in Fließmittel B (Tab. 1, S. 10) getrennt werden mußte. Das Auftragen der Substanz erfolgte wie oben mit 3x 0.12 ml Chloroform/Methanol (2:1); als Vergleichssubstanzen ließ man PPED und PPMED mitlaufen. Nach Entwicklung der Platte bis zu einer Höhe von 13 cm über der Auftraglinie wurden die getrennten Banden wie oben aufgearbeitet.

2.6. Spektrophotometrische Messungen

Die isolierte Substanz wurde mit 3 ml 0.1N HCl gelöst und in 1 cm-Quarzküvetten die Extinktion mit Hilfe eines Zeiss PMQ II Spectralphotometer bei mehreren charakteristischen Wellenlängen zwischen 230 nm und 380 nm gemessen. Als Leerwert diente 0.1N HCl.

Waren, wie in der DMP-Fraktion aus Gehirngewebe, geringe Beimengungen von Lipiden vorhanden, so wurde in 3 ml 0.1N H_2SO_4 gelöst und die Lipide durch Ausschütteln mit 1 ml DCÄ entfernt. Nach kurzem Zentrifugieren wurde die H_2SO_4-Phase abpipettiert und gegen 0.1N H_2SO_4 als Leerwert gemessen.
Bei größeren Substanzkonzentrationen wurden, um im Bereich der besten Meßgenauigkeit des Photometers zu bleiben, Verdünnungen hergestellt.

2.7. Rechnerische Auswertung der Meßwerte

Für die Konzentrationsbestimmung wurde die Extinktionsdifferenz $E_{255} - E_{280}$ zur Auswertung benutzt (3), dabei wurden folgende Werte herangezogen (BREYER, persönliche Angabe):

Perazin:	$E_{255} - E_{280} = 0.100$ entspricht	11,6 nMol/3 ml
DMP:	$E_{255} - E_{280} = 0.100$ entspricht	11,6 nMol/3 ml
PPED:	$E_{255} - E_{280} = 0.100$ entspricht	12,6 nMol/3 ml
PPMED:	$E_{255} - E_{280} = 0.100$ entspricht	12,6 nMol/3 ml
PPA:	$E_{255} - E_{280} = 0.100$ entspricht	12,45 nMol/3 ml

Die so gewonnenen Werte wurden einer Korrektur unterworfen, die sich aus der Wiedergewinnung des jeweiligen Metaboliten ergab. Mit Hilfe des Molekulargewichtes wurde auf µg umgerechnet und unter Berücksichtigung der eingesetzten Gewebemengen die Konzentration in µg/g Feuchtgewicht ermittelt.

Bei den mit Phenobarbital behandelten Tieren zeigte sich in allen Versuchen gegenüber der Alkohol- und Kontrollgruppe ein stark erhöhtes Lebergewicht. Um die absolute Metabolitenmenge in der Leber zu berücksichtigen, wurden die relativen Lebergewichte (RLG) der mit Phenobarbital behandelten Tiere und der Kontrolltiere errechnet und der Quotient RLG (Phenobarbital) : RLG (Kontrolle) gebildet. Mit diesem Faktor wurden die Konzentrationswerte in den Lebern der Phenobarbital-Gruppen multipliziert. Auf der Grundlage der so erhaltenen Werte lassen sich die Metabolitenmengen in der Leber pro 100 g Körpergewicht zwischen den einzelnen Gruppen vergleichen.

2.8. Wiedergewinnungsversuche

Die Wiedergewinnung von PPED, PPMED und PPA bei der Aufarbeitung von Gewebe wurde ermittelt, indem bekannte Mengen von Stammlösungen der Substanzen zu Gewebe unbehandelter Tiere zugesetzt und die Proben analog 2.4.1. und 2.5. aufgearbeitet wurden. Simuliert wurden Versuche mit 2 g und 5 g Gewebe sowohl mit als auch ohne Rechromatographie in Fließmittel B. Durch Vergleich mit den ebenfalls aus den Substanzlösungen entnommenen Standards ergaben sich die Wiedergewinnungsquoten. Damit wurden die Versuchsergebnisse korrigiert. Die Korrekturfaktoren für DMP von 90% und für Perazin von 95% wurden von BREYER (6) übernommen.

2.9. Bestimmung der Blutalkoholkonzentration

8 Ratten bekamen zur gleichen Zeit mit der Schlundsonde eine einmalige Dosis von 3 ml Äthanol/kg als 15 Vol% Äthanollösung. Es wurden dann 2 Gruppen zu je 4 Ratten gebildet, denen abwechselnd nach 1/2, 1, 2, 4, 6 und 8 Stunden 0.2 ml Blut durch Herzpunktion entnommen wurde (insgesamt 3 Punktionen pro Ratte). Die Herzpunktionen wurden mit heparinisierten Einmalspritzen unter Äthernarkose durchgeführt (persönliche Anleitung durch Dozent Dr. Dr. Schüppel). Mit der Methode nach BÜCHER (9) wurde aus den einzelnen Proben mit Hilfe des Blutalkohol UV-Testes (siehe 2.2.) die Alkoholkonzentration bestimmt.

2.10. Statistik

Die statistische Auswertung und Überprüfung der Untersuchungsergebnisse durch den t-Test wurde nach KREYSZIG (18) durchgeführt. Für die Rechenoperationen stand ein Olivetti programma 101 Tischrechner zur Verfügung.

3. ERGEBNISSE

3.1. Verlauf der Blutalkoholkonzentration nach einmaliger Gabe von 3 ml Äthanol/kg per os

Eine Stunde nach Äthanolgabe zeigte sich ein Maximum des Blutalkoholspiegels im Bereich von 2.1 ± 0.1 %.. Danach fiel die Konzentration fast linear auf einen Wert von 0.4 - 0.3 %. sechs Stunden nach Äthanolgabe. Anschließend fand sich pro Stunde ein geringerer Konzentrationsabfall, und acht Stunden nach Äthanolgabe erreichte der Blutalkoholspiegel die 0.1 %. -Grenze (Abb. 2, S. 15).

Im Rahmen des Versuches 3.6. konnte zum Zeitpunkt der Tötung, d.h. zwölf Stunden nach Gabe der letzten Äthanoldosis, bei den Tieren der Alkoholgruppe keine meßbare Blutalkoholkonzentration mehr festgestellt werden.

3.2. Wiedergewinnung der Metaboliten

Der Vergleich der Wiedergewinnungsergebnisse bei der Extraktion aus Lebergewebe mit denen aus Nierengewebe erbrachte keinen Unterschied.

3.2.1. Wiedergewinnung von PPED

Die Versuche wurden nach zwei verschiedenen Anordnungen - entsprechend den Untersuchungen 3.3. bis 3.6. - durchgeführt.

a) 9 verschiedene Mengen von PPED zwischen 64 µg und 440 µg wurden zu 2 g Gewebe hinzugefügt und die Aufarbeitung nach 2.4. bis 2.6. mit Rechromatographie in Fließmittel B (Tab. 1, S. 10) durchgeführt (siehe Abb. 3).
b) 18 verschiedene Mengen von PPED zwischen 25 µg und 1400 µg wurden zu 5 g Gewebe zugesetzt und

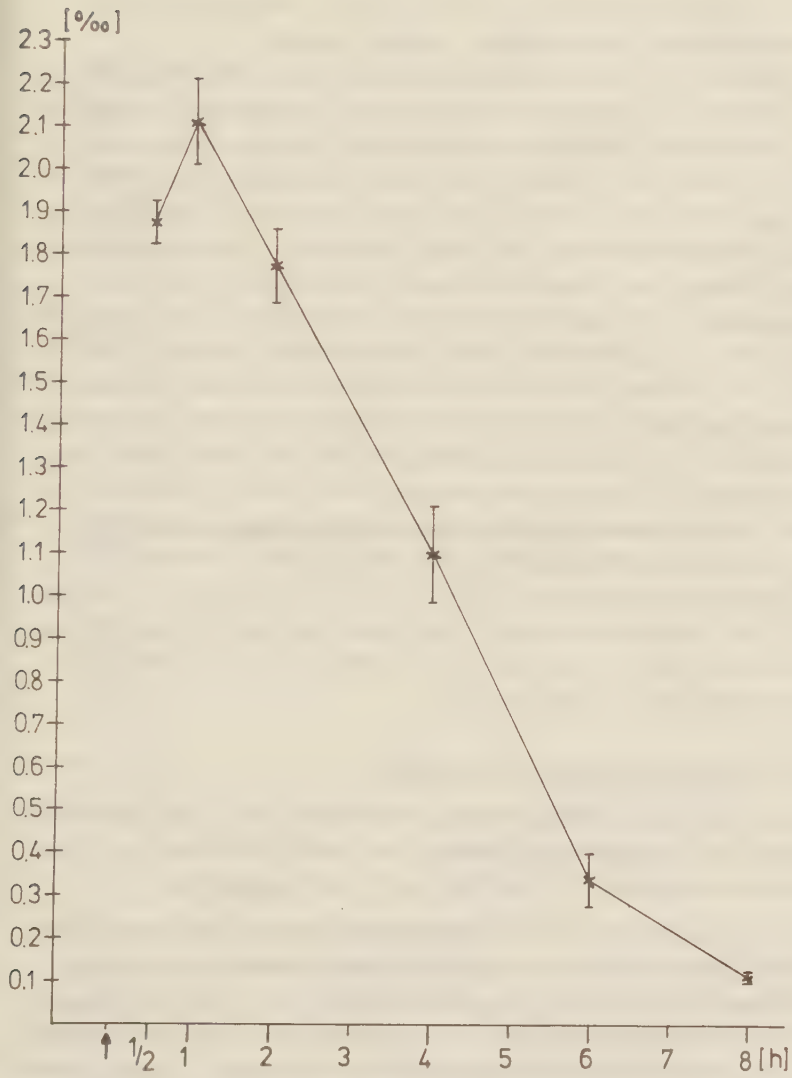


Abb.2: Verlauf der Blutalkoholkonzentration [‰] bei der Ratte nach einmaliger Gabe von 3ml Äthanol/kg per os

die Aufarbeitung nach 2.4. bis 2.6. ohne Rechromatographie durchgeführt (siehe Abb.4).

Bei beiden Versuchen zeigte sich ein stark von der Absolutmenge des zugegebenen Metaboliten abhängiges Ergebnis. Mit steigender PPED-Konzentration im Gewebe ergab sich eine Zunahme des Prozentsatzes des wiedergewonnenen Metaboliten (Abb. 3+4, S.17). Bei der kleinsten in Anordnung a) eingesetzten Menge von 64 µg betrug die nachgewiesene Menge 18 µg, was einer Wiedergewinnungsquote von 28 % entspricht. Bei der kleinsten in Anordnung b) eingesetzten Menge von 25 µg konnten 10 µg nachgewiesen werden, d.h. 40 %. Bei Zugabe gleicher Metabolitenmengen zum Gewebe erbrachten die Extraktionen aus 5 g Gewebe ohne Rechromatographie eine bessere Ausbeute als die Extraktionen aus 2 g Gewebe mit Rechromatographie, wobei die Differenz vor allem bei niederen Metabolitenkonzentrationen ausgeprägt war. Bei höheren Metabolitenkonzentrationen verringerte sich dieser Unterschied, so daß nach Zugabe von je 400 µg PPED der Wiedergewinnungsprozentsatz bei der Aufarbeitung nach Anordnung a) nur noch 1 % geringer war als der entsprechende nach Anordnung b).

3.2.2. Wiedergewinnung von PPMED

10 verschiedene PPMED-Mengen im Bereich von 2 µg bis 20 µg wurden zu 2 g Gewebe zugegeben und nach 2.4. bis 2.6. mit Rechromatographie in Fließmittel B aufgearbeitet.

Auch hier zeigte die Wiedergewinnungsquote eine deutliche Abhängigkeit von der dem Gewebe zugegebenen Absolutmenge an PPMED (Abb.5,S.18). Der Metabolit ließ sich bei dieser Aufarbeitungsmethode noch nach Zugabe von 2 µg zum Gewebe, das entspricht einer Gewebekonzentration von 1 µg/g, nachweisen. Die Wiedergewinnung betrug allerdings nur noch ca. 20 %.

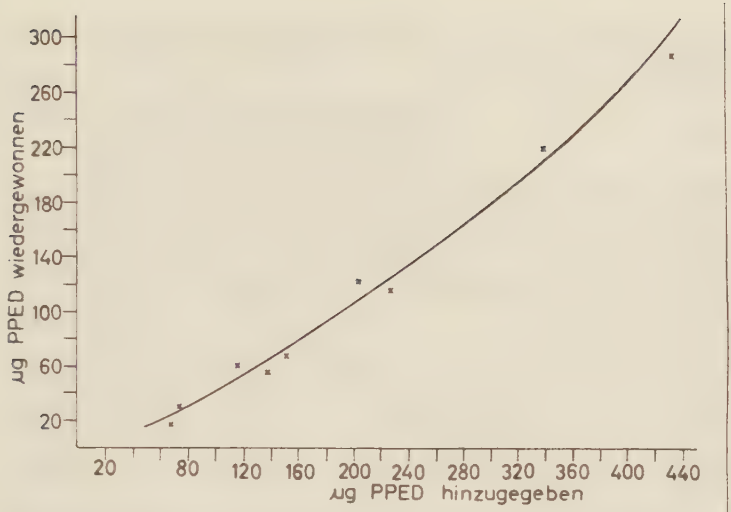


Abb. 3: Wiedergewinnung von PPED aus 2g Gewebe mit Rechromatographie

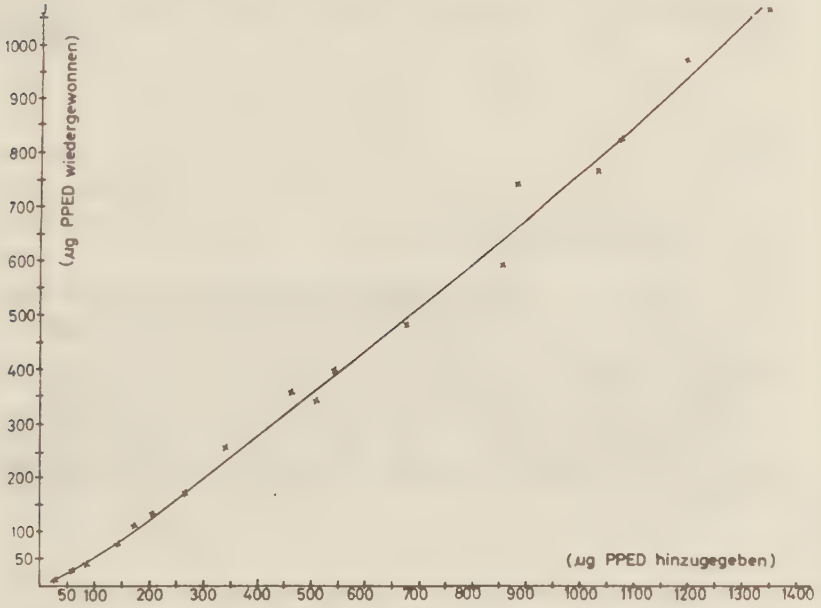


Abb. 4: Wiedergewinnung von PPED aus 5g Gewebe ohne Rechromatographie

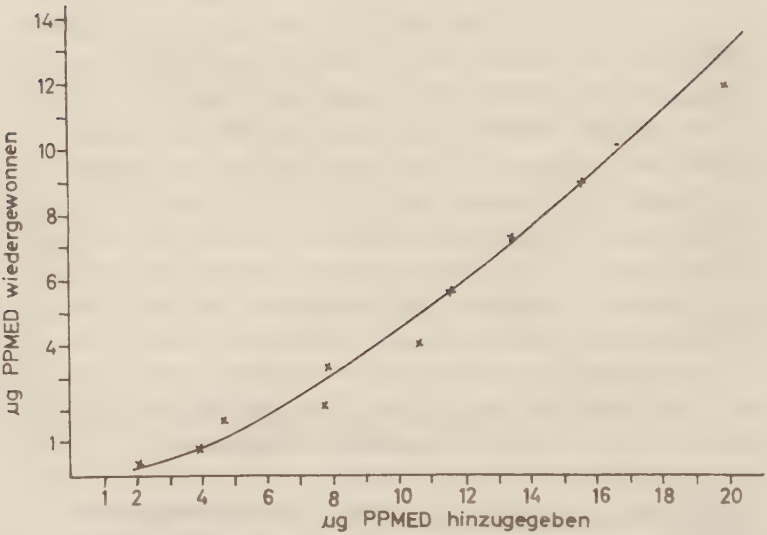


Abb.5: Wiedergewinnung von PPMED aus 2g Gewebe mit Rechromatographie

3.2.3. Wiedergewinnung von PPA

In 4 Versuchen wurden Substanzmengen zwischen 1 µg und 10 µg aus 2 g Gewebe nach Methode 2.4. bis 2.6. aufgearbeitet. Der Prozentsatz an wiedergewonnenem Metaboliten erwies sich als relativ mengenunabhängig und bewegte sich im Bereich von 86 % bis 94 %. Für die Korrekturberechnung der Versuche wurde ein Wert von 90 % zugrunde gelegt.

3.3. Metaboliten in der Leber nach akuter Gabe von Perazin

3.3.1. Einfluß von Phenobarbital (Perazinapplikation per os)

8 mit Phenobarbital vorbehandelte Ratten und 6 Kontrolltiere bekamen um 8 Uhr eine einmalige Dosis von 50 mg Perazin/kg per os. Zwei Stunden nach Perazingabe wurden die Tiere geschlachtet und die Metabolitenkonzentrationen im Lebergewebe bestimmt.

Bei gleichem Körpergewicht war das Lebergewicht der mit Phenobarbital behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen um 14 % erhöht.
PPMED und PPA konnten bei beiden Gruppen nicht nachgewiesen werden.
Die Perazin-Menge bei den mit Phenobarbital vorbehandelten Tieren war wohl gegenüber den Kontrolltieren erniedrigt, doch konnte diese Differenz statistisch nicht gesichert werden (Tab.2, S.21 und Abb.6, S.22).
Dagegen zeigte sich eine deutliche Erhöhung der DMP-Menge auf über das Doppelte bei der Phenobarbitalgruppe.
Die PPED-Menge war um knapp 50 % erhöht. Dieser Wert lag gerade unter der Signifikanzgrenze von $p = 0.05$. Es fand sich also bei der Phenobarbitalgruppe relativ zur vorhandenen DMP-Menge eine geringere PPED-Konzentration.

3.3.2. Wirkung einer Äthanolbelastung (i.p. Injektion von Perazin)

5 Tiere erhielten per os je 3 ml Äthanol/kg. Eine Stunde später, d.h. im Maximum der Blutalkoholkonzentration (siehe Abb.2, S.15), wurde 50 mg Perazin/kg intraperitoneal injiziert. Eine Kontrollgruppe erhielt nur Perazin. Schlachtung der Tiere 2 Stunden nach i.p. Injektion.

Dieser Applikationsweg des Perazins wurde gewählt, um trotz der Äthanolgabe eine Resorption des Perazins zu erzielen. Denn zuvor war eine Versuchsreihe durchgeführt worden, bei der nach der Äthanolgabe Perazin per os appliziert worden war und sich eine Störung der Resorption herausgestellt hatte. Bei diesen Tieren fiel schon bei der Schlachtung ein prallvoller Magen mit strikturähnlicher Einengung im Pylorusbereich auf. In den Geweben konnten in einigen Fällen Perazin und seine Metaboliten nicht entdeckt werden, in anderen lagen sie in abnorm niedrigen Konzentrationen vor. Es besteht hier offenbar eine Beeinträchtigung der enteralen Resorption des Perazins durch Äthanol, deren Mechanismus einer Aufklärung bedürfte.

Bei beiden Gruppen lagen die Organgewichte im gleichen Bereich. Die beschleunigte Perazinresorption nach i.p. Injektion zeigte sich recht deutlich in den allgemein höheren Werten aller gefundenen Substanzen bei den Kontrolltieren (Tab.3, S.21) im Vergleich zu Versuch 3.3.1. (Tab.2, S.21), bei dem die gleiche Menge Perazin per os gegeben wurde.

Unter Äthanol war die Konzentration an Perazin über doppelt so hoch wie bei der Kontrollgruppe, doch ließ sich dieses Ergebnis wegen der geringen Zahl von Einzelwerten statistisch nicht sichern. Die nachweisbaren Metaboliten DMP, PPED und PPMED zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Tab.3, S.21 und Abb.7, S.23).

Tab.2: Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 50 mg PERAZIN/kg per os unter dem Einfluß von Phenobarbital

Gruppe	n	Metabolitenkonzentrationen (µg/g) PPED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	DMP $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PERAZIN $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPMED und PPA
Kontrolle	6	5,2 ±0,6		11,2 ±1,5		9,6 ± 1,3		nicht nach-
Phenobarbital *	8	7,7 ±1,0	=0.05	24,6± 2,8	<0.01	8,0 ± 1,0	n.s.	weisbar

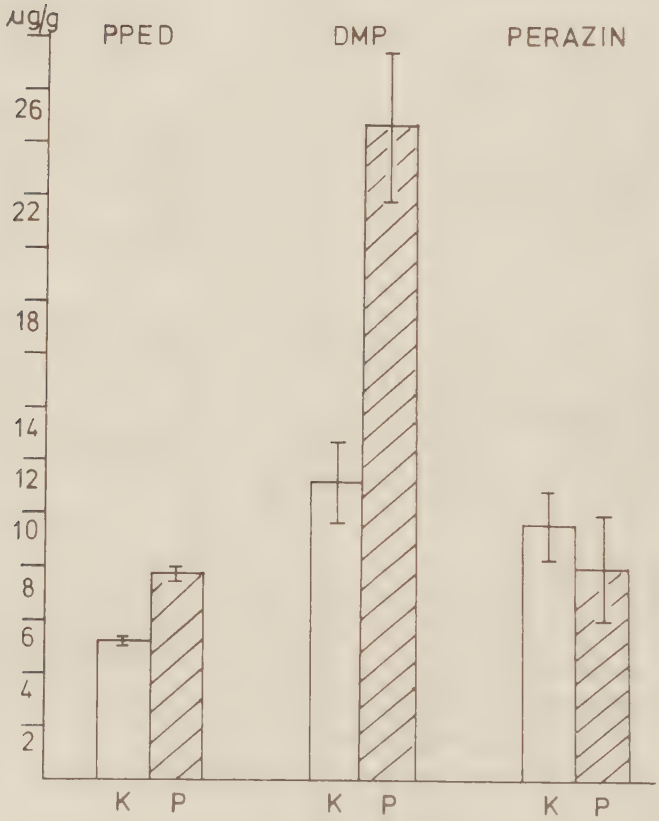
*unter Beachtung des rel. Lebergewichtes

Tab.3: Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 50 mg PERAZIN/kg intraperitoneal unter gleichzeitiger Äthanolbelastung

Gruppe	n	Metabolitenkonzentrationen (µg/g) PPED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	DMP $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PERAZIN $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPMED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p
Kontrolle	4	14,5 ±1,9		44,0 ±1,0		24,7±5,1		2,2 ±0,3	
Äthanol	5	11,7 ± 0,9	n.s.	48,6 ± 3,0	n.s.	52,5±10,4	>0.05	2,6± 0,3	n.s.

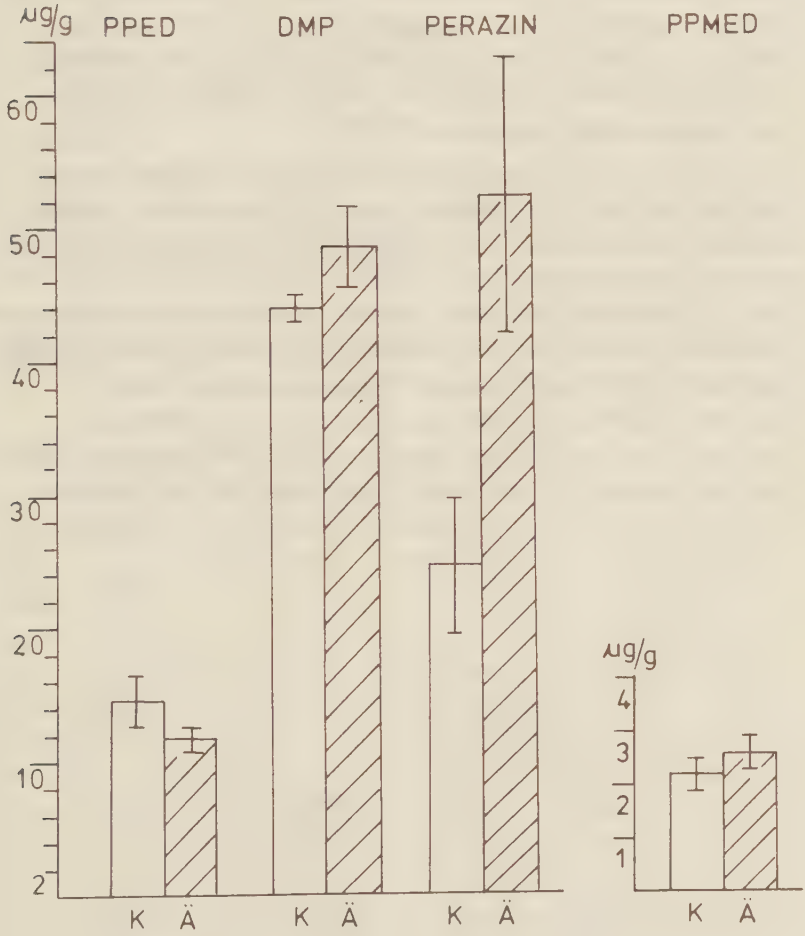
PPA nicht nachweisbar

Abb.6 : Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 50 mg PERAZIN/kg per os unter dem Einfluß von Phenobarbital



[K = Kontrolle; P = Phenobarbital]

Abb. 7: Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 50 mg PERAZIN/kg intraperitoneal unter gleichzeitiger Äthanolbelastung



[K = Kontrolle; Ä = Äthanol]

3.4. Metaboliten in der Leber nach akuter Gabe von DMP i.p.

6 Ratten wurden 3 Tage mit Phenobarbital vorbehandelt. Eine Stunde vor DMP-Gabe erhielten weitere 4 Tiere 3 ml Äthanol/kg per os. Dann wurden diesen beiden Gruppen und 8 nicht vorbehandelten Kontrolltieren um 8 Uhr 25 mg DMP/kg intraperitoneal injiziert. Zwei Stunden später wurden die Tiere geschlachtet und die Lebern zur Metabolitenbestimmung aufgearbeitet.

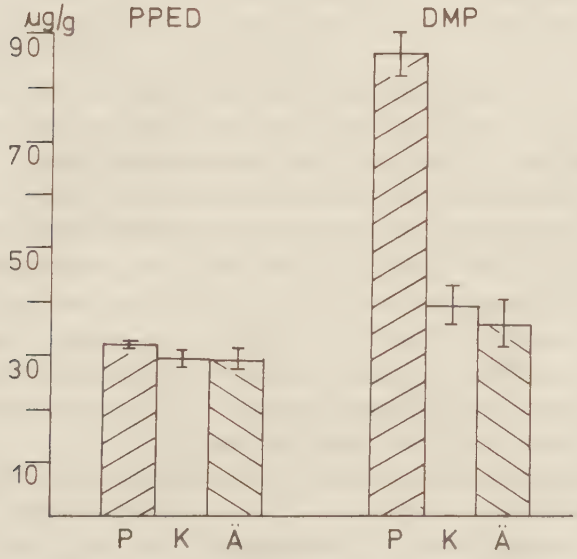
Die Lebern der mit Phenobarbital vorbehandelten Tiere zeigten ein um 17 % höheres Gewicht als die der beiden anderen Gruppen. Bei allen drei Gruppen konnten PPED und DMP bestimmt werden.
Sowohl die PPED- als auch die DMP-Konzentrationen bei den mit Äthanol behandelten Tieren entsprachen völlig den Ergebnissen der Kontrolltiere (Tab.4 u. Abb.8, S.25).
Bei der Phenobarbitalgruppe fand sich eine DMP-Menge, die den Wert der Kontrollgruppe hochsignifikant auf mehr als das Doppelte überstieg. Jedoch war die PPED-Menge nur geringgradig und nichtsignifikant erhöht (Tab.4).

Tab. 4: Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 25 mg DMP/kg (i.p.)

Gruppe	n	Metabolitenkonzentrationen (µg/g) PPED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	DMP $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p
Kontrolle	8	29,5 ± 1,4		39,5 ± 3,4	
Phenobarbital*	6	32,2 ± 0,7	n.s.	86,4 ± 4,0	< 0.001
Äthanol	4	29,3 ± 2,0	n.s.	36,0 ± 4,5	n.s.

*unter Beachtung des rel. Lebergew.

Abb. 8: Metabolitenkonzentrationen in der Leber der Ratte nach einmaliger Gabe von 25 mg DMP/kg (i.p.)



[P=Phenobarbital; K=Kontrolle; Ä=Äthanol]

3.5. Elimination der Metaboliten nach einmaliger Gabe von PPED per os

12 Tiere wurden mit Phenobarbital vorbehandelt und erhielten über die gesamte Versuchsdauer jeden Abend 50 mg Phenobarbital/kg per os. In der Alkoholgruppe (12 Tiere) bekam ab dem 1. Versuchstag jedes Tier um 12 Uhr und um 20 Uhr je eine Dosis von 3 ml Äthanol/kg per os. Die Kontrollgruppe wurde weder vor- noch zusatzbehandelt. Gemeinsam erhielten alle drei Gruppen am 1. Versuchstag um 8 Uhr eine einmalige Dosis von 100 mg PPED/kg per os. Von jeder Gruppe wurden 6 Tiere 48 Stunden nach der PPED-Gabe, die anderen 6 Tiere 5 Tage nach PPED-Gabe geschlachtet. Aufgearbeitet wurden die Lebern und Nieren.

Die Lebern der mit Phenobarbital behandelten Tiere zeigten ein um 30 % höheres Gewicht als die der beiden anderen Gruppen. PPA konnte sowohl in den Lebern als auch in den Nieren aller drei Gruppen nur nach 2 Tagen gemessen werden. Am 5. Tag ließen sich nur noch Spuren nachweisen.

Leber: Bei der Phenobarbitalgruppe zeigten die PPED-Mengen nach 2 und nach 5 Tagen, sowie die PPA-Mengen nach 2 Tagen signifikant höhere Werte als bei der Kontrollgruppe (Tab.5, S.27). Die Werte der mit Äthanol behandelten Tiere erschienen dagegen nur geringgradig und nichtsignifikant erhöht. Auffallend war der Konzentrationsabfall innerhalb der verschiedenen Gruppen (Abb.9, S.28). Er verlief bei der Alkoholgruppe parallel zu dem bei den Kontrolltieren; bei der Phenobarbitalgruppe dagegen konnte trotz höherer Absolutwerte an PPED nach 48 Stunden ein viel geringerer Abfall vom 2. auf den 5. Tag aufgezeigt werden.

Niere: Hier ergaben sich unter Phenobarbital die entgegengesetzten Veränderungen wie in der Leber (Tab.5, S.27 u. Abb.9, S.28): PPED war sowohl am 2. als auch am 5. Tag erniedrigt; statistisch konnte dies jedoch nicht gesichert

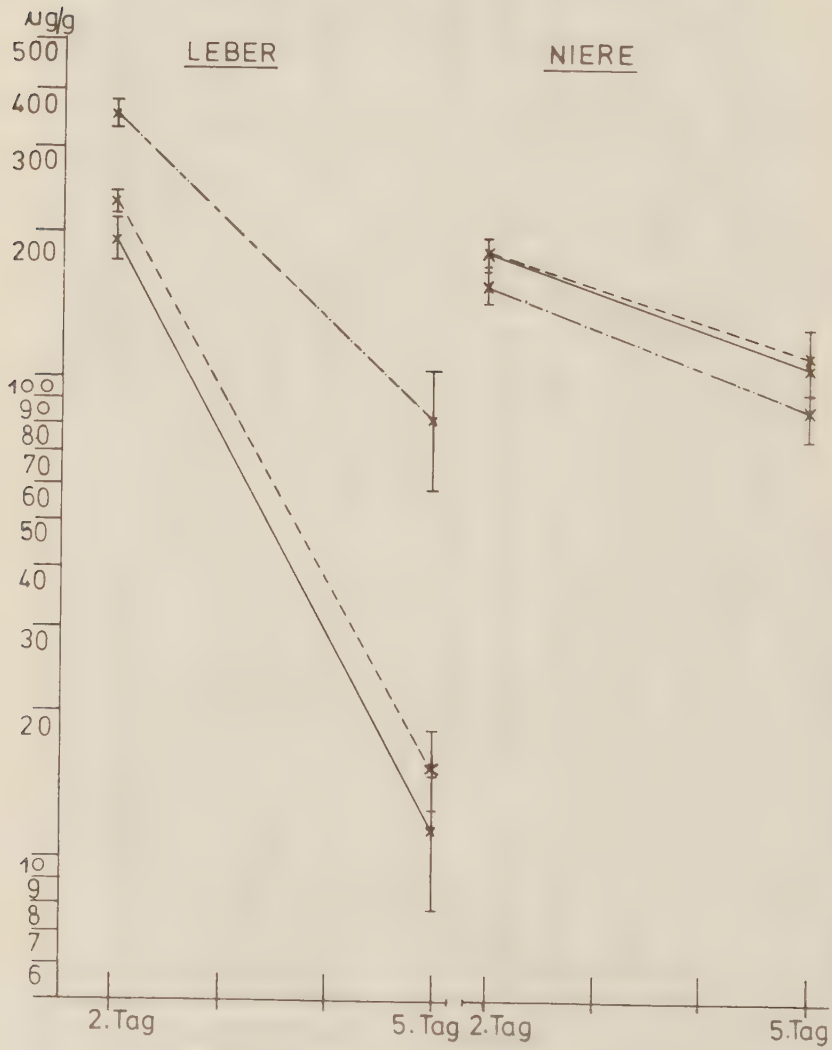
Tab. 5: Elimination der Metaboliten aus Geweben der Ratte nach einmaliger Gabe von 100 mg PPED/kg per os

	Gruppe	n	Metabolitenkonzentrationen (µg/g) PPED nach 2 Tagen $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPED nach 5 Tagen $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPA nach 2 Tagen $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p
LEBER	Kontrolle	6	192,0 ± 20,2		11,3 ± 3,6		2,2 ± 0,3	
	Phenobarbital*	6	353,0 ± 23,0	< 0.001	80,5 ± 23,0	< 0.05	4,2 ± 0,6	< 0.05
	Äthanol	6	230,0 ± 9,5	n.s.	15,2 ± 3,0	n.s.	2,9 ± 0,4	n.s.
NIERE	Kontrolle	6	180,0 ± 12,7		105,5 ± 12,5		2,3 ± 0,4	
	Phenobarbital	6	155,0 ± 12,1	n.s.	86,0 ± 11,2	n.s.	1,1 ± 0,1	< 0.05
	Äthanol	6	182,0 ± 15,4	n.s.	110,5 ± 10,1	n.s.	2,3 ± 0,3	n.s.

*unter Beachtung des rel. Lebergew.

PPA war am 5. Tag in beiden Geweben nur in Spuren nachweisbar

Abb. 9: Elimination von PPED aus den Geweben von Ratten nach einmaliger Gabe von 100 mg PPED/kg per os



werden. PPA lag ebenfalls in geringerer Konzentration vor als bei den Kontrolltieren, wobei dieser Unterschied statistisch signifikant war.
Die mit Äthanol behandelten Tiere zeigten in den Nieren keinen Unterschied gegenüber den Kontrolltieren.
In allen drei Gruppen war der prozentuale Abfall der PPED-Konzentration in den Nieren vom 2. auf den 5. Tag völlig gleich (Abb.9, S.28), beachtenswert war vor allem der parallele Verlauf der PPED-Elimination in den Nieren der Phenobarbitalgruppe und der Kontrolltiere.
Aus Abb.9 läßt sich für PPED eine Halbwertszeit (HWZ) in den Lebern der Kontroll- und der Alkoholgruppe von 18 Stunden abschätzen, in denen der Phenobarbitalgruppe von 34 Stunden. In der Niere betrug die HWZ für PPED bei allen drei Gruppen ca. 3 $^{3}/4$ Tage. Diese Werte sind mit den Ergebnissen von BREYER (6) vergleichbar.

3.6. Metabolitenakkumulation bei chronischer Behandlung mit täglich 50 mg Perazin/kg per os

10 Ratten erhielten an den 3 Tagen vor Versuchsbeginn und über die gesamte Versuchsdauer jeden Abend um 20 Uhr eine Dosis von 50 mg Phenobarbital/kg per os. Weiteren 10 Tieren wurde ab dem Tage der ersten Perazingabe über den ganzen Versuchsverlauf täglich zweimal (um 12 Uhr und 20 Uhr) je 3 ml Äthanol/kg als 15 Vol% Lösung per os gegeben.

Alle Ratten der Phenobarbitalgruppe und der Alkoholgruppe sowie einer Kontrollgruppe von 8 Tieren bekamen 14 Tage lang jeden Morgen (8 Uhr) 50 mg Perazin/kg per os. 24 Std. nach der letzten Perazin-Gabe wurden die Tiere geschlachtet und die Konzentrationen von PPED, PPMED, DMP und PPA in Leber, Niere und Gehirn bestimmt.

Zum Zeitpunkt der Tötung wurde bei den mit Äthanol behandelten Tieren die Blutalkoholkonzentration bestimmt. Dabei

konnte kein Alkohol mehr festgestellt werden.

Die Kontrolltiere behielten über die gesamte Versuchsdauer ihr Körpergewicht bei, zeigten also unter der chronischen Behandlung mit Perazin keine Gewichtsabnahme. Die zusätzlich mit Phenobarbital behandelten Tiere nahmen um 3,5 % ab. Die Körpergewichte der Tiere, welche zusätzlich zum Perazin unter Äthanoleinfluß standen, waren um durchschnittlich 8 % gegenüber dem Ausgangsgewicht reduziert.

Zwischen allen 3 Gruppen zeigten die Gewichte der Gehirne und der Nieren Übereinstimmung. Die Tiere der Phenobarbitalgruppe hatten zum Schlachtzeitpunkt jedoch gegenüber denen der Kontroll- und Alkoholgruppe ein um 30 - 35 % erhöhtes relatives Lebergewicht.
Die exakten Werte der folgenden Ergebnisse sind in Tab.6 (S.31) und Abb.10 (S.33) dargestellt. Perazin konnte in keinem Gewebe der 3 Gruppen nachgewiesen werden und wird daher bei den Ergebnissen und in der Tabelle nicht mehr eigens erwähnt. Der quantitativ bedeutendste Metabolit war bei allen drei Gruppen und in allen drei Organen immer PPED. Er lag in Leber, Niere und Gehirn in einer 10 - 20fach höheren Konzentration vor als die anderen drei Metaboliten. Doch zeigte sich ein deutlicher Konzentrationsunterschied von PPED zwischen den einzelnen Gruppen und Geweben.

Leber: Diese enthielt bei den mit Phenobarbital behandelten Tieren höhere Mengen an allen 4 Metaboliten als bei den Kontrolltieren. Auffallend erhöht waren vor allem PPED und PPA mit Werten um + 100 %; die DMP-Menge war um 60 %, die PPMED-Menge um 30 % vermehrt. Ohne Korrektur für das vergrößerte relative Lebergewicht ergeben sich ebenfalls signifikante Erhöhungen der Konzentrationen an PPED und PPA. Dagegen waren in den Lebern der mit Äthanol

Tab. 6: Metabolitenkonzentrationen im Gewebe der Ratte nach 14-tägiger Behandlung mit täglich 50 mg PERAZIN/kg per os

	Gruppe	n	Metabolitenkonzentrationen (µg/g) PPED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	DMP $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPA $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p	PPMED $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	p
LEBER	Kontrolle	8	88,5 ± 6,5		4,1 ± 0,7		2,6 ± 0,3		6,1 ± 0,7	
	Phenobarbital*	10	172,0 ± 7,9	<0.001	6,7 ± 0,9	<0.05	5,0 ± 0,4	<0.001	8,0 ± 0,4	<0.01
	Äthanol	10	106,5 ± 4,9	<0.05	5,6 ± 0,7	n.s.	3,9 ± 0,5	<0.05	6.3 ± 0,4	n.s.
NIERE	Kontrolle	8	76,0 ± 3,8		4,0 ± 0,4		1,2 ± 0,1		4,4 ± 0,3	
	Phenobarbital	10	60,0 ± 4,0	=0.05	3,0 ± 0,5	n.s.	0,8 ± 0,1	<0.01	2,6 ± 0,4	<0.01
	Äthanol	10	89,0 ± 3,0	<0.01	5,2 ± 0,6	n.s.	1,8 ± 0,3	n.s.	4,7 ± 0,2	n.s.
GEHIRN	Kontrolle	8	7,2 ± 0,2		0,7 ± 0,1		—		—	
	Phenobarbital	10	4,6 ± 0,3	<0.001	0,5 ± 0,05	<0.01	—		—	
	Äthanol	10	8,4 ± 0,4	<0.05	1,4 ± 0,2	=0.01	—		—	

*unter Beachtung des rel. Lebergew.

behandelten Tiere PPED nur um 20 % und PPA um 50 % erhöht; die PPMED-Werte bewegten sich im gleichen Bereich wie die der Kontrolltiere. DMP war um 35 % erhöht, doch konnte dies statistisch nicht gesichert werden.

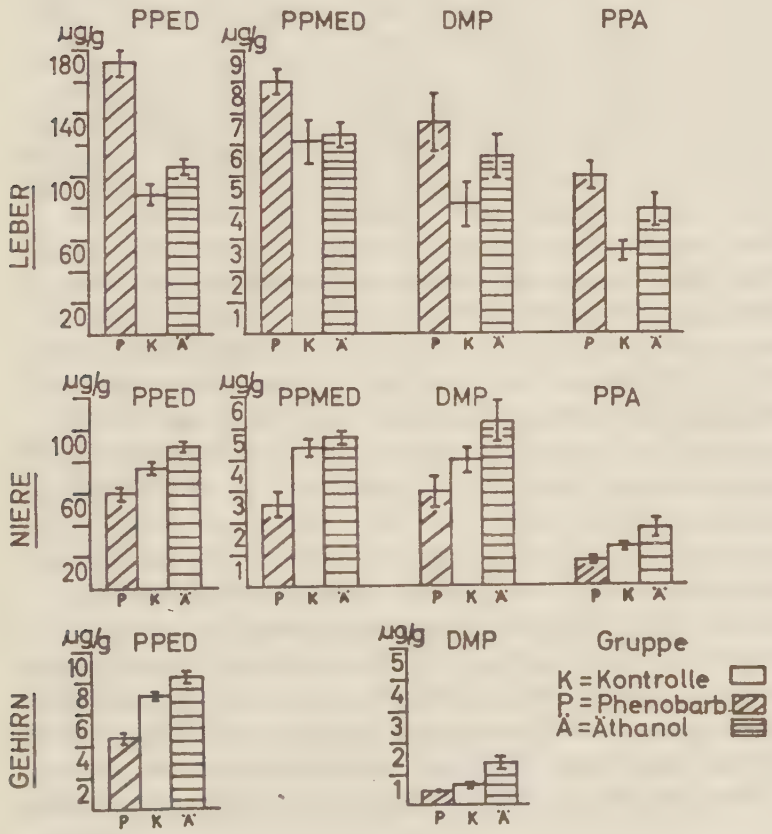
Niere: In den Nieren ergab der Vergleich von Kontroll- und Phenobarbitalgruppe genau das umgekehrte Bild. Hier zeigte sich in den Nieren der Phenobarbitalgruppe eine deutliche Verminderung aller vier Metaboliten gegenüber den Werten der Kontrollgruppe. PPED war um 20 %, DMP um 25 %, PPA um 30 %, PPMED gar um 40 % vermindert.
In den Nieren der mit Äthanol behandelten Tiere fand sich eine gegenüber der Kontrollgruppe signifikant um 20 % erhöhte PPED-Konzentration. Auch waren PPA (+ 50 %) und DMP (+ 30 %) erhöht, jedoch konnten diese Werte statistisch nicht gesichert werden. Diese Ergebnisse aus den Nieren der Alkoholgruppe entsprechen genau dem Bilde, welches beim Vergleich der Werte aus den Lebern von Kontroll- und Alkoholgruppe zustande kam.

Gehirn: Hier konnte PPA nicht nachgewiesen werden. Die anderen Metaboliten lagen auch nur in so geringer Konzentration vor, daß eine Rechromatographie zur Trennung von PPED und PPMED wegen der zu erwartenden Verluste (siehe 3.2.) nicht in Frage kam. Es wurde also die Summe PPED + PPMED bestimmt. Wegen des starken Überwiegens von PPED auch im Gehirn (BREYER, pers. Mitteilung) wird diese Fraktion als PPED bezeichnet.
Im Gehirn zeigte sich dasselbe Bild wie bei den Nieren. Bei der Phenobarbitalgruppe fand sich eine Erniedrigung der Metabolitenkonzentrationen (PPED -35 %, DMP -30 %), bei der Alkoholgruppe eine Erhöhung (PPED +16 %, DMP +50 %) gegenüber den Kontrolltieren.

Somit waren die durch Phenobarbital bewirkten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen in der Leber spiegelbildlich zu denen in Niere und Gehirn. Bei den mit

Äthanol behandelten Tieren konnte dagegen eine gleichmäßige Zunahme der Metabolitenkonzentrationen (PPED +20 %) in allen drei Organen festgestellt werden.

Abb. 10: Metabolitenkonzentrationen im Gewebe der Ratte nach 14-tägiger Behandlung mit täglich 50 mg PERAZIN/kg per os



4. DISKUSSION

4.1. Besprechung der eigenen Ergebnisse und Gegenüberstellung mit der Literatur

4.1.1. Ergebnisse aus 3.1.

Der in Abbildung 2 (S.15) aufgezeigte Verlauf der Blutalkoholkonzentration zeigt, daß die Ratten bei den Untersuchungen 3.5. und 3.6. einem intermittierenden Äthanoleinfluß ausgesetzt waren, der um 13 Uhr und um 21 Uhr seine Höhepunkte hatte. Dies bedeutet aber auch, daß bei 3.6. erst 4 bis 5 Stunden nach Perazingabe das Äthanol eine Beeinflussung des Perazinstoffwechsels hervorrufen konnte und daß sich zum Zeitpunkt der erneuten Perazingabe keine nachweisbare Alkoholkonzentration mehr im Blut befand. Daher konnte bei Untersuchung 3.6. nur ein Teil des Perazins in seiner Verstoffwechselung durch die Anwesenheit von Äthanol beeinflußt werden.
Dieser Gesichtspunkt braucht bei 3.5. sicherlich nicht so stark berücksichtigt zu werden, da ja dort PPED in relativ gleichmäßiger Konzentration vorhanden war und während ca. 10 von 24 Stunden eine wesentliche Alkoholkonzentration einwirkte. SCHÜPPEL et al. (37) fanden als kritische Äthanoldosis für die Hemmung der N-Demethylierung bei der Ratte die relativ niedrige Blutalkoholkonzentration von 0,5 - 1,0 ‰. Berücksichtigt man noch, daß es sich bei Äthanol um einen kompetitiven Hemmer handelt (27; 28), der keine überdauernde Beeinträchtigung des Enzyms verursacht (34), kann bei der Interpretation der Versuchsergebnisse von 3.5. und 3.6. nicht davon ausgegangen werden, daß es bei der angewandten Äthanoldosierung zu einer starken und dauernden Hemmung

des Fremdstoffe abbauenden Enzymsystems und einem Eingriff in den Abbau von Perazin und PPED gekommen sein müsse. Im Endergebnis könnte sogar die Hemmung nicht zur Geltung gekommen sein, denn nach Befunden von SCHÜPPEL (34; 37) kommt es bei anfänglicher Hemmung unter dem direkten Äthanoleinfluß nach Abfall der Blutalkoholkonzentration zu einer erhöhten Metabolitenausscheidung, die als Kompensation zu verstehen ist. Da bei den Tieren aus 3.6. zum Zeitpunkt des Schlachtens keine Blutalkoholkonzentration feststellbar war, muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß dieser Kompensationsmechanismus auch wirksam war. RUBIN et al. (26) fanden bei chronischer Äthanolgabe an Ratten sogar eine Induktion des Arzneimittel abbauenden Enzymsystems in den Lebermikrosomen. Doch gehen hier die Befunde auseinander, und es läßt sich aus der Literatur kein eindeutiges Bild erhalten (16;19).

Dagegen kann bei den Untersuchungen 3.3.2. und 3.4. mit der angewandten Dosierung und Versuchsanordnung davon ausgegangen werden, daß der Perazin- und DMP-Stoffwechsel unter der direkten Einwirkung von Äthanol abliefen. Die Blutalkoholkonzentrationen bewegten sich während der Versuchsdauer zwischen 2,2 und 1,4 ‰. Es waren also die Bedingungen gegeben, unter denen es zu einer kompetitiven Hemmung kommen kann.

4.1.2. Ergebnisse aus 3.2.

Der Befund, daß es für die Wiedergewinnungsquote von PPED gleichgültig ist, ob mit Lebergewebe oder Nierengewebe gearbeitet wird, stimmt mit den Ergebnissen von BREYER (6) überein, in welchen auch bei Hirngewebe keine Änderung festgestellt werden konnte. Ausschlaggebend ist nur die Aufarbeitungsmethode und die Art des Metaboliten.

Die Unbeständigkeit von PPED während der Aufarbeitungsprozedur zeigt sich nicht nur in der bei beiden Wiedergewinnungsanordnungen a) und b) von 3.2.1. festgestellten starken Abhängigkeit des Prozentsatzes an wiedergewonnenem PPED von der im Gewebe vorhandenen Absolutmenge des Metaboliten (Abb.3+4, S.17), sondern auch im Vergleich der absoluten Prozentzahl von wiedergewonnenem PPED mit denen von PPA (siehe 3.2.3.), sowie von DMP und Perazin (siehe 2.8.), wobei PPED selbst bei hohen Gewebekonzentrationen deren Wiedergewinnungswerte nicht erreicht.

Die konzentrationsabhängige Verlustrate zeigt sich aber auch in der Differenz zwischen den nach Anordnung a) und b) erhaltenen Kurven. Diese Differenz, mit anderen Worten der geringere Prozentsatz an wiedergewonnenem PPED bei Anordnung a) gegenüber b), spiegelt nichts anderes wieder, als den durch die zweite Chromatographie verlorengegangenen PPED-Anteil. Berücksichtigt man, daß bei Anordnung a) mit 2 g Gewebe, bei Anordnung b) jedoch mit 5 g Gewebe gearbeitet wurde, was vermutlich zu einer geringeren Wiedergewinnung bei der Extraktion Anlaß gibt, würde sich diese Verlustrate durch die Rechromatographie sogar noch erhöhen.

Daß ein beachtlicher PPED-Anteil sich während der Rechromatographie zersetzt und verloren geht, stellte BREYER (6) in einem Modellversuch fest, in welchem von 8 µg PPED ca. 50 % während einer Rechromatographie verloren gingen. In Anbetracht dieser Instabilität von PPED bei der angewandten Aufarbeitungsmethode wurde bei den Untersuchungen 3.3. bis 3.6. versucht, die Arbeitsgänge so weit wie möglich zu standardisieren und die Aufarbeitungszeiten sehr kurz zu gestalten, um somit die Verluste möglichst klein und relativ gleich zu halten.

Eine dem PPED entsprechende Konzentrationsabhängigkeit des Wiedergewinnungsfaktors zeigte auch PPMED. Doch läßt

sich kein direkter Vergleich ziehen, da PPMED noch in viel geringeren Konzentrationen meßbar war und sich das konzentrationsabhängige Verhalten nur in Bereichen zeigte, in denen PPED kaum mehr nachweisbar war. Schon bei 20 µg PPMED im Gewebe betrug nach einer Aufarbeitung mit Rechromatographie der Wiedergewinnungsprozentsatz 70 %. Sicher läßt sich damit sagen, daß PPMED viel stabiler gegenüber der Aufarbeitungsprozedur ist als PPED.

Dagegen entspricht PPA in seinem Verhalten bei der Aufarbeitung dem Perazin und DMP, indem es einen konzentrationsunabhängigen Wiedergewinnungsprozentsatz und mit 90 % eine relativ große Stabilität beim Aufarbeitungsgang an den Tag legt. Die gefundene Wiedergewinnungsquote entspricht dem von BREYER (6) ermittelten Wert.

4.1.3. Ergebnisse aus 3.3.1.

Die signifikant stark erhöhte DMP-Konzentration zwei Stunden nach Perazingabe kann als Resultat der Induktion der N-Demethylase durch die Phenobarbital-Behandlung angesehen werden. Die dabei nur geringgradige und statistisch nicht gesicherte Erniedrigung der Perazinkonzentration könnte ihre Erklärung darin finden, daß andere Stoffwechselwege, über die Perazin abgebaut werden kann, durch Phenobarbital nicht im gleichen Maß beschleunigt werden. Befunde in dieser Richtung konnte BREYER (5) erheben, die bei Umsetzung von Perazin mit Lebermikrosomen in vitro eine starke Beschleunigung der Demethylierung durch Phenobarbital-Vorbehandlung fand; dabei war die Sulfoxidation nur geringgradig vermehrt, die aromatische Hydroxylierung dagegen leicht und die N-Oxidation sogar stark verlangsamt. Gerade die aromatische Hydroxylierung mit anschließender Glucuronidierung kann in vivo als der Hauptstoffwechselweg

von Perazin bei der Ratte angesehen werden.

Die zusätzliche Forderung, daß nach Phenobarbitalbehandlung der weitere Abbau von DMP nicht beschleunigt abläuft, wurde getrennt in Versuch 3.4. geprüft und bestätigt. Die leichte Vermehrung von PPED mag Ausdruck einer vermehrten Anflutung bei erhöhtem DMP-Angebot sein. Die relativ geringere Erhöhung von PPED gegenüber der DMP-Zunahme unter Phenobarbital spricht für zusätzliche Faktoren, etwa einer vermehrten Bindung von DMP und dessen Entzug aus dem Stoffwechsel. Es darf hier auf die gleichen Beobachtungen bei Versuch 3.4. und auf dessen Diskussion 4.1.5. verwiesen werden. Somit kommt die DMP-Vermehrung unter Phenobarbital durch eine Kombination von vermehrter Bildung aus Perazin und einem durch Bindung verzögerten Abbau zustande.

Die Tatsache, daß PPMED nicht nachweisbar war, erlaubt nicht, Rückschlüsse auf die Beeinflussung seiner Bildungs- und Verstoffwechselungsreaktionen unter der Einwirkung von Phenobarbital zu ziehen; vielmehr erklärt sie sich dadurch, daß bei Berücksichtigung der üblichen Relation der gebildeten PPED- und PPMED-Konzentrationen PPMED unter der Nachweisgrenze liegt.
Diese Erklärung trifft auch für PPA zu. Obwohl PPA als Folgeprodukt von PPED angesehen werden kann (BREYER, unveröffentlicht), ist der Quotient "gebildetes PPA/PPED" sehr klein. Sicherlich spielt bei der Abwesenheit von PPA auch der Zeitfaktor eine Rolle, da der Bildung von PPA aus Perazin mehrere Reaktionsschritte vorausgehen, eine Anflutung des zur Bildung von PPA notwendigen Metaboliten mehr Zeit in Anspruch nimmt und das Maximum somit erst später erwartet werden kann.

4.1.4. Ergebnisse aus 3.3.2.

Eine gegenüber der per os Gabe deutlich beschleunigte Perazinresorption nach i.p. Injektion spiegelt sich in der beträchtlichen Erhöhung der Konzentrationswerte aller gefundenen Metaboliten bei den Kontrolltieren im Vergleich zu den Werten der Kontrolltiere aus 3.3.1. wieder.

Wenn auch knapp über der notwendigen Signifikanzgrenze liegend - wahrscheinlich bedingt durch die geringe Anzahl von Einzelwerten -, finden sich bei den mit Äthanol behandelten Tieren im Durchschnitt doppelt so hohe Perazin-Konzentrationen als bei der Kontrollgruppe. Entgegen der Erwartung lag die DMP-Konzentration bei der Alkoholgruppe nicht unter den Kontrollwerten. Obwohl sich die Blutalkoholkonzentration im Bereich von 2,2 ‰ bis 1,4 ‰ bewegte, scheint es, als hätte Äthanol keinen Hemmeffekt auf die N-Demethylierung ausgeübt. Dies würde dem Befund von SCHÜPPEL et al. (37) widersprechen. Betrachtet man aber bei der Alkoholgruppe das erniedrigte Verhältnis von DMP/Perazin, so spiegelt sich doch eine deutliche Hemmung der N-Demethylierung durch Äthanol wieder. Da jedoch die Absolutwerte von DMP nicht niedriger als bei der Kontrollgruppe liegen, könnte an eine Hemmung von dessen Abbau gedacht werden. Aus den unveränderten PPED-Konzentrationen läßt sich aber schließen, daß eine Hemmung des Stoffwechsels über PPED nicht vorliegt. Demnach wäre eine Hemmung der aromatischen Hydroxylierung von DMP denkbar. Da es sich bei der Hydroxylierung um einen bedeutenden Stoffwechselweg handelt, trifft dies wahrscheinlich auch für Perazin zu, was nun zusätzlich zu der erhöhten Perazin-Konzentration beigetragen haben könnte.

Warum es nun angesichts des durch Äthanol gehemmten Stoffwechselweges Perazin → DMP nicht zu der erwarteten Zunahme des Abbaus über PPMED und einer damit verbundenen Erhöhung der PPMED-Konzentration gekommen ist, kann nicht erklärt werden.

4.1.5. Ergebnisse aus 3.4.

Entsprechend den Erfahrungen aus 3.3.2. wurde, um keine Resorptionsbeeinträchtigung zu erhalten, die DMP-Gabe als i.p. Injektion durchgeführt.

Die Lebergewichtszunahme bei der Phenobarbitalgruppe lag mit 17 % in der gleichen Größenordnung wie bei den ebenso vorbehandelten Tieren der Untersuchung 4.3.1.

Da bei allen drei Gruppen nur PPED als Metabolit festgestellt werden konnte, bestätigt dies die Vorstellung der direkten Entstehung von PPED aus DMP. Die völlig identischen Werte der Kontroll- und der Alkoholgruppe zeigen, daß dieser Abbauschritt selbst durch Blutalkoholkonzentrationen von 2,2 - 1,4 ‰ nicht hemmend beeinflußt wird.

Für die signifikant erhöhte DMP-Konzentration bei der Phenobarbitalgruppe wären zwei Ursachen zu diskutieren. Da 12 Stunden nach der letzten von 3 Phenobarbitalgaben eine Phenobarbital-Konzentration von 30 - 40 µg/ml im Plasma gemessen wurde (BREYER u. GREINER, unveröffentlicht), wäre eine Hemmung des DMP-Abbaus durch das noch vorhandene Phenobarbital nicht ausgeschlossen. Um diese Möglichkeit abzuklären, wurde DMP 36 Stunden nach der letzten Phenobarbitalgabe appliziert, wobei die Phenobarbitalspiegel nur noch 1,4 - 8,5 µg/ml Plasma betrugen. Auch bei diesem Versuch lag die DMP-Konzentration bei den vorbehandelten Tieren höher als bei den Kontrolltieren (BREYER, unveröffentlicht). Auf Grund dieser Ergebnisse ist eine Hemmung des DMP-Abbaus durch Phenobarbital nicht anzunehmen.

Als zweite mögliche Ursache ist anzunehmen, daß nach Phenobarbital-Vorbehandlung DMP stärker im Gewebe gebunden wird, etwa an Strukturen außerhalb des Fremdstoffe abbauenden Enzymsystems oder an dieses in einer

Bindungsart, aus der keine Verstoffwechselung stattfindet. Durch diese Bindung wird DMP dem Stoffwechsel entzogen und somit sein Abbau verzögert. Diese Erklärung ist neuartig und findet kaum Analogien in der Literatur. Die Ergebnisse dieses Versuches und des vorausgegangenen Versuches 3.3.1. (siehe Diskussion 4.1.3.) sowie die der nachfolgend zu diskutierenden können aber anders nicht interpretiert werden. Auch findet sich somit eine Erklärung für die trotz der stark erhöhten DMP-Menge gefundene unveränderte PPED-Menge bei den mit Phenobarbital vorbehandelten Tieren. Infolge der verstärkten Bindung kann DMP nur beschränkt für den Stoffwechsel zur Verfügung stehen.

Einen anderen Aspekt des hier gefundenen Phänomens könnten von BAHR et al. (1; 2) beobachtet haben. Sie beschrieben eine Veränderung der Bindungsspektren von Nortriptylin und Desmethylimipramin an Mikrosomen, wenn die Tiere mit Phenobarbital behandelt waren, und zwar entstand statt eines Typ I - Spektrums ein modifiziertes Typ II - Spektrum. Dieses brachten die Autoren mit einer Verzögerung der Hydroxylierung von Nortriptylin durch die Vorbehandlung in Zusammenhang.

4.1.6. Ergebnisse aus 3.5.

Mit einer Zunahme des Lebergewichts um 14 - 17 % nach 3 Phenobarbitaldosen in Untersuchung 3.3.1. und 3.4. und der bei diesem Versuch 3.5. gefundenen Erhöhung um 30 % nach 5 Phenobarbitaldosen bestätigt sich die von STÄUBLI et al. (39) beschriebene direkte Beziehung zwischen der Lebervergrößerung und der Zahl der Phenobarbitaldosen bis zum 5. Tag. Daß sich ab dem 5. Tag mit einer Zunahme von 30 % des relativen Lebergewichts die Grenze der mit Phenobarbital möglichen Induktion

eingestellt hat, zeigt sich in der dann gleichbleibenden Größe des relativen Lebergewichtes von 130 % der Kontrollgruppe bei den 5-Tage-Werten von 3.5., d.h. nach insgesamt 8 Phenobarbitalgaben, sowie in der gleichfalls nur 30 %igen Zunahme nach 17 Phenobarbitaldosen in 3.6. Dieses Maximum des Leberzuwachses durch Gabe von Phenobarbital entspricht den von GREIM (14) und STÄUBLI et al. (39) gefundenen Ergebnissen.

Da bei allen drei Gruppen die in den Lebern gefundenen PPA-Konzentrationen am 2. Tag den gleichen Prozentsatz (1,15 - 1,25 %) der jeweils vorhandenen PPED-Konzentrationen betrugen und sich PPA als einziger weiterer Metabolit nach PPED-Gabe nachweisen ließ, kann PPA als Abbauprodukt von PPED angesehen werden. Das sehr ähnliche PPED/PPA-Verhältnis bei der Kontroll- und der Alkoholgruppe läßt darauf schließen, daß die Bildung von PPA aus PPED durch Äthanol nicht beeinflußt wird. Wie wenig sich durch Äthanol auch die Anreicherung und Elimination von PPED in Leber und Niere verändern lassen, zeigt sich in den gleich großen Konzentrationswerten und dem gleichen Eliminationsverhalten bei der Alkohol- und Kontrollgruppe.

Die Kinetik der PPED-Elimination aus der Leber unter Phenobarbital ergab ein unerwartetes Bild: Obwohl der Abbau zumindest zum Teil über PPA verläuft, also über eine N-Dealkylierung, die durch Phenobarbital beschleunigt werden sollte, lagen schon am 2. Tag nach der PPED-Gabe die PPED-Werte bei der Phenobarbitalgruppe um 84 % über denen der Kontrollgruppe; außerdem verlief der Abfall zwischen dem 2. und 5. Tag deutlich weniger steil (Abb.9, S.28). Dies läßt wohl nur die Erklärung zu, daß es nach Phenobarbital zu einer verstärkten Bindung von PPED im Lebergewebe kommt.

Dies erklärt dann gleichzeitig den leicht erniedrigten

PPED-Wert in der Niere, der somit auf eine bevorzugte Bindung in der Leber zurückzuführen ist. Eine noch ausgeprägtere Verschiebung der Konzentrationsverhältnisse durch verstärkte Bindung zeigte sich bei PPA, welches bei der Phenobarbitalgruppe in der Niere signifikant erniedrigt, in der Leber dagegen signifikant erhöht war.

Bei allen drei Gruppen ergab sich in der Leber ein steilerer Abfall der PPED-Werte vom 2. auf den 5. Tag gegenüber dem Verlauf in den Nieren. Die kürzere Halbwertszeit in der Leber gegenüber der Niere gibt Anlaß, die Leber als zentralen Ort des PPED-Abbaus anzusehen.

Das langsamere Verschwinden von PPED aus der Niere könnte damit erklärt werden, daß die Elimination aus diesem Organ durch den Transport über das Blut begrenzt wird und dieser langsamer verläuft als der PPED-Abbau in der Leber. Ein Abbau in der Niere durch das dort vorhandene Cytochrom-P-450 ist in Erwägung zu ziehen; doch wiesen UEHLEKE et al. (40) nach Versuchen, den Abbau von Fremdstoffen in der Niere durch Phenobarbital zu stimulieren, diesem Organ eine untergeordnete Rolle bei der biochemischen Umwandlung von Fremdstoffen und Pharmaka zu. Auch deutet die etwa gleich schnelle Elimination von PPED aus Niere, Lunge und Milz (6) darauf hin, daß die Rückdiffusion und die begrenzte Transportkapazität des Blutes für PPED die entscheidenden Mechanismen darstellen. In Anbetracht des bei allen drei Gruppen gleichen Eliminationsverlaufs von PPED in der Niere läßt sich folgern, daß die Zusatzbehandlung mit Phenobarbital oder Äthanol auf diesen Transportmechanismus keinen Einfluß hat.

4.1.7. Ergebnisse aus 3.6.

Läßt sich der leichte Gewichtsverlust der mit Phenobarbital behandelten Tiere vielleicht auch als Folge der sedierenden Wirkung des Phenobarbitals und der eventuell verminderten Nahrungsaufnahme während der Nachtzeit erklären, muß doch die auffallende Reduzierung des Körpergewichtes der mit Äthanol behandelten Tiere dem direkten Äthanoleinfluß zugeschrieben werden. Ob dieser Verlust auf einer kalorischen Ursache beruht, ob die Tiere also einfach weniger gefressen hatten, oder aber ob Äthanol in die Wachstumsregulation eingegriffen hatte, kann hier nicht geklärt werden. Interessant ist die von RATCLIFFE (21) aufgestellte Theorie, daß Äthanol direkt hemmend im Hypothalamus eingreift und es dadurch zu einer Einschränkung der Sekretion von Wachstumshormon aus der Hypophyse kommt. Jedoch konnte er eine Gewichtsabnahme, bei der es sich um eine harmonische, gleichmäßige Reduzierung aller Körperbestandteile handelte, statistisch signifikant erst nach 4 Wochen Äthanolbehandlung nachweisen. So sind auch die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Prozentzahlen nach 2 Wochen Äthanolbehandlung in ihrer Aussagekraft mit Vorsicht zu verwerten, da die Körpergewichtsmessungen nicht unter den exakten meßtechnischen Voraussetzungen vorgenommen wurden, die für eine statistische Berechnung und gesicherte Aussage notwendig sind.

Das bei den mit Phenobarbital behandelten Tieren gefundene um 30 - 35 % erhöhte Lebergewicht ist direkt dem induzierenden Effekt von Phenobarbital auf die Leber zuzuschreiben. Die hier bestimmten Werte entsprechen trotz der geringeren Dosierung den von STÄUBLI et al. (39) gefundenen Zunahmen des relativen Lebergewichtes nach Gabe von 100 mg Phenobarbital/kg.

Bei allen drei Gruppen bewegten sich die einzelnen Metabolitenkonzentrationen in der Leber in gleichen Bereichen

wie in der Niere. Dagegen lagen bei allen drei Gruppen die Konzentrationen im Gehirn 10 - 20fach niedriger als die Werte der entsprechenden Metaboliten in Leber und Niere.

Da Perazin in den Geweben aller drei Gruppen nicht mehr nachweisbar war, kann daraus der Schluß gezogen werden, daß es bei der hier angewandten Dosierung zu keiner Kumulation von Perazin kommt. Da sich die DMP-Werte in den Geweben aller drei Gruppen im selben Bereich wie diejenigen der Akutversuche bewegen, kann auch für DMP angenommen werden, daß es bei dieser Dosierung nicht kumuliert.

Dagegen deuten die gegenüber den Werten von DMP, PPA und PPMED 10 - 20fach höheren PPED-Konzentrationen in den Lebern aller drei Gruppen auf eine starke Bindung von PPED im Gewebe hin, die zur Kumulation des Metaboliten führt. Die Konzentration lag auch wesentlich höher als bei Versuch 3.4., was ebenfalls als Hinweis für seine Kumulation betrachtet werden kann.

Veränderungen bei zusätzlicher Gabe von Phenobarbital:
Die um 60 % erhöhten DMP-Werte in den Lebern könnte man mit einer Steigerung der Demethylierungsgeschwindigkeit infolge einer Induktion der mischfunktionellen Oxidase erklären. Eine Bestätigung hierfür ergibt sich aus Versuch 3.3.1. Zu der DMP-Erhöhung trägt sicher auch der Effekt der DMP-Bindung im Gewebe an Strukturen außerhalb des Fremdstoffe abbauenden Enzymsystems als zusätzlicher Faktor bei. Zur näheren Erläuterung dieser Erklärung darf auf 4.1.5. verwiesen werden. So kommt wohl die DMP-Vermehrung unter Phenobarbital durch eine Kombination von vermehrter Bildung und verzögertem Abbau zustande. Daß der Bindungseffekt wohl bedeutsamer ist als die Beschleunigung der DMP-Bildung, darauf deutet die leicht gesenkte DMP-Konzentration in Niere und Gehirn.

Die Erhöhung von PPED in der Leber um über 100 % kann nicht durch eine Bildungsbeschleunigung erklärt werden, da diese in Versuch 3.4. ausgeschlossen wurde (siehe Diskussion 4.1.5.). Diese hohe PPED-Konzentration findet ihre Parallele in dem Versuch 3.5. und ist eher Ausdruck einer verstärkten Bindung von PPED in der Leber durch die aus der Lebervergrößerung unter Phenobarbital resultierende Zunahme der bindenden Strukturen. Dafür sprechen ebenfalls die erniedrigten Werte in Niere und Gehirn. Auch in Versuch 3.5. findet sich bei stark erhöhten PPED-Werten in den Lebern der mit Phenobarbital behandelten Tiere in den Nieren weniger PPED als bei den Kontrollen. Eine gesteigerte biochemische Umwandlung der Metaboliten in der Niere scheidet aus (40).

Zur näheren Abklärung dieses Bindungsphänomens wäre es notwendig zu wissen, an welche Strukturen in der Leberzelle PPED gebunden wird. BREYER (6) fand bei nicht mit Phenobarbital behandelten Tieren die höchste PPED-Konzentration pro Milligramm Protein in den Mitochondrien, während die Mikrosomen weit geringere Mengen PPED/mg Protein enthielten. Morphometrische Untersuchungen (39) ergaben allerdings, daß unter Phenobarbital die Mitochondrien nur wenig, das glatte endoplasmatische Retikulum dagegen stark zunehmen. Biochemisch fand sich in den Mikrosomen eine viel stärkere Zunahme der Phospholipide als des mikrosomalen Proteins (39).
Will man diesen Befund mit der vermuteten stärkeren PPED-Bindung unter Phenobarbital in Einklang bringen, muß man annehmen, daß nach der Behandlung mit Phenobarbital ein größerer Teil PPED an das glatte endoplasmatische Retikulum gebunden wird als bei unbehandelten Tieren. Diese Verschiebung könnte durch den stark erhöhten Phospholipidgehalt in den Mikrosomen begünstigt werden.

Entsprechend dem Befund in Versuch 3.5. (siehe Diskussion 4.1.6.) erklären sich die erhöhten PPA-Werte in der Leber und die erniedrigten PPA-Werte in der Niere auch mit einer Verschiebung durch verstärkte Bindung von PPA in den Lebern der mit Phenobarbital behandelten Tiere. Dies mag auch für PPMED zutreffen; doch muß bei PPMED zusätzlich berücksichtigt werden, daß bei der Phenobarbitalgruppe trotz erhöhter PPMED-Menge in der Leber das Verhältnis PPMED/PPED geringer ist als bei den Kontrollen. Der Grund dafür läßt sich sicher in der Begünstigung der Demethylierung unter Phenobarbital sehen.

Veränderungen bei zusätzlicher Äthanolbelastung:
Bei allen vier Metaboliten fanden sich leichte Konzentrationserhöhungen, die jedoch im Gegensatz zu den Versuchen mit Phenobarbital in allen untersuchten Organen und nicht nur in der Leber beobachtet wurden. Warum es nicht zu einer Verminderung der Metabolitenkonzentrationen gekommen ist, kann zum einen damit erklärt werden, daß bei der angewandten Dosierung Äthanol nur temporär auf den Perazin-Stoffwechsel einwirken konnte (siehe 4.1.1.). Zum anderen ist zu beachten, daß die Tiere zu einer Zeit geschlachtet wurden, als die Alkoholkonzentrationen schon 6 bis 7 Stunden unter 0,5 ‰ lagen.

Entsprechend den von SCHÜPPEL (34; 37) gefundenen verschiedenen Phasen des Äthanol-Einflusses könnten die erhöhten Metabolitenkonzentrationen dadurch zustande gekommen sein, daß zum Schlachtzeitpunkt gerade die Phase der kompensatorischen Umsatzerhöhung durchlaufen wurde. Die Auswirkung einer derartigen Aufholphase des Arzneistoffwechsels auf die Höhe der Konzentrationswerte wäre jedoch unter Berücksichtigung der jeweiligen Halbwertszeiten nur für DMP und PPA wahrscheinlich. In Versuch 4.5. fand sich aber nach 2 Tagen keine PPA-Erhöhung bei der Alkoholgruppe, so daß diese Deutung an

Überzeugungskraft verliert. DMP wiederum darf nur unter Vorbehalt in diese Überlegungen miteingeschlossen werden, da die erhöhten Werte statistisch nicht gesichert sind.

Ob die erhöhten Metabolitenwerte auf eine Stimulierung des Fremdstoffabbaus durch Äthanol beruhen, also im Sinne einer Induktion, scheint sehr fraglich. Für eine direkte Beschleunigung der untersuchten Abbauwege ergab sich in den Untersuchungen 3.3.2. und 3.4. kein Anhalt. Es könnte sich allenfalls um einen Langzeiteffekt handeln. Ob aber chronischer Äthanoleinfluß überhaupt einen Stimulationseffekt auf den Arzneistoffwechsel ausüben kann, ist umstritten (16; 19). Die von RUBIN (26) gefundene Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums ist eher als Antwort auf eine unter Äthanol erhöhte Lipidakkumulation in diesen Strukturen aufzufassen und somit käme eine Erhöhung der Metabolitenkonzentration durch verstärkte Bindung in Frage. Da sich aber bei dem vorliegenden Versuch auch in Niere und Gehirn dieselbe Zunahme wie in der Leber findet, ist eine Erklärung durch vermehrte Bindung hinfällig.

Eine klare Aussage über die Ursache der erhöhten Metabolitenkonzentrationen unter chronischer Äthanolbelastung kann somit nicht erbracht werden.

4.2. Kritik und Lücken der eigenen Methode

In der Regel wurden die Pharmaka per os verabreicht. Dies erschien wünschenswert im Hinblick auf die mögliche Ausbildung von Adhaesionen, Megacolon und paralytischem Ileus bei i.p. Injektion von Psychopharmaka (29; 41). Trotzdem war es bei Versuch 3.3.2. und 3.4. notwendig, intraperitoneal zu applizieren, um die gefundene Beeinträchtigung der Resorption bei gleichzeitiger

Äthanolgabe per os zu vermeiden. Da die i.p. Injektionen jedoch nur bei Akutversuchen angewandt wurden und somit keine Zeit für die Ausbildung von Adhaesionen oder den Versuch beeinträchtigenden Ileuserscheinungen blieb, braucht den von VAPAATALO et al. (41) und SCHNEIDER et al. (29) gefundenen Veränderungen für die hier durchgeführten Versuche keine Bedeutung zugemessen werden. Die Anwendung zweier verschiedener Applikationsformen erbrachte aber die Schwierigkeit, die einzelnen Versuche und deren Konzentrationswerte nicht direkt miteinander vergleichen zu können.

Die bei den Untersuchungen 3.5. und 3.6. angewandte wiederholte Äthanoldosierung ermöglichte weder einen relativ konstanten Blutalkoholspiegel noch konnte erreicht werden, daß wenigstens während der ganzen Versuchsdauer Äthanol im Organismus vorhanden war. Eine nicht unbeträchtliche Zeit waren die Tiere der Alkoholgruppe dieser Untersuchungen gar keiner Äthanoleinwirkung ausgesetzt. Damit sind die Ergebnisse für die biochemische Fragestellung schwieriger zu deuten; man erhielt jedoch eher Verhältnisse, die für die klinische Fragestellung als repräsentativ angesehen werden können.

Durch diese Arbeit wurde das ungewöhnliche pharmakokinetische Verhalten von PPED bestätigt und eine unerwartete Veränderung der Kinetik unter Phenobarbital aufgezeigt. Dieses Phänomen bedürfte einer eingehenden biochemischen Untersuchung, bei der vor allem die bindenden Strukturen bei unbehandelten und mit Phenobarbital behandelten Tieren aufzuschlüsseln wären.

Auch erbrachten diese Untersuchungen kein lückenloses Bild des Gesamtschicksals von Perazin in seiner Verstoffwechselung; einige Schlüsse konnten nur indirekt gezogen werden, so z.B. bezüglich der Beeinträchtigung der aromatischen Hydroxylierung durch Phenobarbital und Äthanol.

4.3. Aussichten und Aussagen für weitere Untersuchungen

Neben der schon angeregten weiteren Untersuchung zur genauen Lokalisation und Art der PPED-bindenden Subzellularstrukturen wären Nachforschungen von Interesse, die den Perazinmetaboliten PPED in seiner pharmakologischen Wirkungspotenz betreffen. Da bei Chlorpromazin eine Reihe von nicht-sulfoxidischen Metaboliten biochemisch eine ähnliche Aktivität aufwiesen wie die Muttersubstanz (20), besteht durchaus die Möglichkeit, daß die hier untersuchten Metaboliten pharmakologisch wirksam sind. In Anbetracht der starken Kumulation und der langsamen Elimination von PPED muß dem um so mehr Rechnung getragen werden.

Zwar stand im Hintergrund dieser Arbeit eine klinische Fragestellung, doch wurde nicht direkt eine Wirkungsveränderung durch Zusatzbehandlung untersucht. Es zeigten sich mit Phenobarbital, in geringem Ausmaß auch mit Äthanol, Konzentrationsverschiebungen einzelner Metaboliten. Somit müßte an eine Veränderung des Wirkungsprofils von Perazin bei gleichzeitiger Gabe anderer Pharmaka oder Fremdstoffe gedacht werden. Nicht selten stehen Patienten, die mit Neuroleptika behandelt werden, unter dem Einfluß von weiteren Medikamenten, aber auch von Alkohol. Kann im Augenblick über die Wirkungsinterferenz von Perazin und seinen einzelnen Metaboliten keine Aussage gemacht werden, sollten bei der Behandlung mit Perazin und anderen Piperazin-substituierten Neuroleptika bei Zugabe von anderen Pharmaka doch stets die möglichen Veränderungen in den Metabolitenkonzentrationen und in dem damit verbundenen klinischen Wirkungsprofil berücksichtigt werden. Dies gilt vor allem bei einer Langzeittherapie.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Männlichen Ratten, die gleichzeitig unter dem Einfluß von Phenobarbital oder Äthanol standen, wurde Perazin (Methyl-piperazinyl-propyl-phenothiazin), sowie dessen Metaboliten DMP (Desmethylperazin) und PPED (Phenothiazinyl-propyl-äthylendiamin) in verschiedenen Versuchsanordnungen und über unterschiedliche Zeitspannen gegeben. In Leber-, Nieren- und Gehirngewebe wurden die Konzentrationen von Perazin und/oder vier Metaboliten (Formelschema Abb.1, S.5) mittels Extraktion, Dünnschichtchromatographie und anschließender U.V. Spektrophotometrie bestimmt.

1.) Zwei Stunden nach Applikation von Perazin (50 mg/kg) fanden sich in den Lebern der mit Phenobarbital vorbehandelten Tiere wesentlich höhere Konzentrationen des Demethylierungsproduktes DMP als bei den Kontrollen. Äthanol, eine Stunde vor Perazin gegeben, senkte das DMP/Perazin-Verhältnis. Demnach kann die N-Demethylierung in vivo durch diese beiden Zusatzbehandlungen beschleunigt bzw gehemmt werden.

2.) Wurden die Lebern von Ratten 2 Stunden nach i.p. Injektion von DMP (25 mg/kg) analysiert, so lag der DMP-Gehalt nach Phenobarbital-Behandlung signifikant höher als bei nicht vorbehandelten Tieren. Dagegen war die Menge an PPED, das aus DMP durch Abbau des Piperazinringes gebildet wird, identisch mit derjenigen der Kontrollgruppe. Äthanol hatte keinen Einfluß auf die Metabolitenkonzentrationen.

3.) Zwei Tage nach oraler Gabe einer Einzeldosis PPED (100 mg/kg) enthielten die Lebern der mit Phenobarbital behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen die doppelte Menge an PPED; zudem fiel die Konzentration in den nächsten drei Tagen wesentlich flacher ab. In den Nieren war PPED dagegen erniedrigt, wenn zusätzlich Phenobarbital gegeben wurde; dabei verlief die Elimination mit derselben Geschwindigkeit wie bei den Kontrollen. PPA ließ

sich als Metabolit von PPED am 2. Tag nachweisen. Wie PPED war PPA unter Phenobarbital in der Leber erhöht, in der Niere erniedrigt. Zusätzliche Äthanolbelastung beeinflußte weder am 2. noch am 5. Tag die Metabolitenkonzentrationen in Leber und Niere, d.h. die PPED-Elimination wurde durch Äthanol nicht gestört.
4.) Chronische Gabe von Perazin (14 Tage je 50 mg/kg per os) führte zur Akkumulation von PPED und PPMED in den Geweben; außerdem ließen sich DMP und PPA nachweisen. Bei zusätzlicher Phenobarbitalgabe fanden sich alle Metaboliten, besonders ausgeprägt PPED und PPA, in der Leber vermehrt; in Niere und Gehirn lagen die Konzentrationen aller vier Metaboliten niedriger als bei alleiniger Gabe von Perazin. Die zweimalige tägliche Applikation von Äthanol ließ die Metabolitenkonzentrationen in allen drei Geweben leicht bis mäßig ansteigen.
5.) Nach einmaliger Gabe von 3 ml Äthanol/kg per os wurde der Verlauf der Blutalkoholkonzentration bei Ratten bestimmt. Es ergab sich 1 Stunde nach Applikation ein Maximum von 2,1 ‰, dann nahm die Alkoholkonzentration pro Stunde um ca. 0,35 ‰ ab und lag acht Stunden post appl. bei 0,1 ‰.

Der relativ geringe Einfluß von Äthanol auf die Metabolitenkonzentrationen bei den chronischen Versuchen wird damit erklärt, daß nur während einiger Stunden pro Tag eine Alkoholkonzentration im Körper vorlag, unter der es zu einer Hemmung des Fremdstoffabbaus kommen kann.
Die Pharmakokinetik von DMP und PPED (u. PPA) wurde durch Phenobarbital auf eine ungewöhnliche Art beeinflußt. Zur Erklärung der Veränderungen muß angenommen werden, daß es durch die Phenobarbital-induzierte Hypertrophie bestimmter Leberzellstrukturen zu einer vermehrten Bindung der Substanzen im Gewebe kommt und der enzymatische Abbau dadurch vermindert ist. Außerdem verschiebt sich das Verteilungsgleichgewicht zwischen Leber und extrahepatischen Organen zugunsten der Leber, da hier die Bindung verstärkt wird.

6. LITERATURVERZEICHNIS

(1) BAHR, von, C.: Binding and oxidation of amitriptyline and a series of its oxidized metabolites in liver microsomes from untreated and phenobarbital-treated rats.
Xenobiotica 2 (3); 293-306 (1972)

(2) BAHR, von,C., J.B. SCHENKMAN, S. ORRENIUS: Effect of phenobarbital and 3,4-benzpyrene treatment of rats on the microsomal binding and hydroxylation of nortriptyline and desmethylimipramine: Evidence for qualitative changes in cytochrome-P450-ligand interaction following phenobarbital pretreatment.
Xenobiotica 2; 89 (1972)

(3) BREYER,U.: Urinary metabolites of 10-[3'-(4"-methylpiperazinyl)-propyl]-phenothiazine (Perazine) in psychiatric patients. I. isolation, identification and determination of metabolites.
Biochem. Pharmacol. 18; 777-788 (1969)

(4) BREYER,U.: Metabolism of the phenothiazine drug perazine by liver and lung microsomes from various species.
Biochem. Pharmacol. 20; 3341-3351 (1971)

(5) BREYER,U.: Perazine, chlorpromazine and imipramine as inducers of microsomal drug metabolism.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 272; 277-288 (1972)

(6) BREYER,U.: Accumulation and elimination of a novel metabolite during chronic administration of the phenothiazine drug perazine to rats.
Biochem. Pharmacol. 21; 1419-1429 (1972)

(7) BREYER,U., D.KRAUSS and J.C. JOCHIMS: A cumulating metabolite derived from a piperazine-substituted phenothiazine drug.
Experientia 28; 312-313 (1972)

(8) BURROWS,G.D. and B. DAVIES: Antidepressants and barbiturates
Brit. med. J. 1971 IV; 113

(9) BÜCHER,Th. und H. REDETZKI: Klin. Wschr. 29;615 (1951)

(10) COOPER,D.Y., S.LEVIN, S.NARASIMHULU, O.ROSENTHAL and R.W.ESTABROOK: Photochemical action spectrum of the terminal oxidase of mixed function oxidase system.
Science 147; 400-402 (1965)

(11) CUCINELL,S.A., A.H.CONNEY, M.SANSUR, J.J.BURNS: Drug interactions in man. I. Lowering effect of phenobarbital on plasma levels of bishydroxycoumarin (Dicumarol) and diphenylhydantoin (Dilantin).
Clin. Pharmacol. Ther. 6; 420-429 (1965)

(12) ENSS,H., K.HARTMANN, H.HIPPIUS und H.-E.RICHTER: Klinische Erfahrungen mit einem neuen Piperazin-Derivat des Phenothiazins in der Neuro-Psychiatrie.
Arch. Psychiat. Nervenkr., Bd 197; 534-550 (1958)

(13) FORREST,F.M., I.-S.FORREST and B.-S.FINKLE: Alcohol-chlorpromazine interaction in psychiatric patients.
Agressologie 13; 67-74 (1972)

(14) GREIM,H.: Synthesesteigerung und Abbauhemmung bei der Vermehrung der mikrosomalen Cytochrome P-450 und b-5 durch Phenobarbital.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 266; 261-275 (1970)

(15) JÄKEL,D., H.PAUST, O.SCHRAPPE: Orientierende Untersuchung über die Aktivierung Fremdstoffe abbauender Enzyme durch fortgesetzte Psychopharmakotherapie.
Klin. Wschr. 48; 703-704 (1970)

(16) KALANT,H., J.M. KHANNA and J.MARSHMAN: Effect of chronic intake of ethanol on pentobarbital metabolism.
J. Pharmacol. exp. Ther. 175 (2); 318-324 (1970)

(17) KATO,R., E.CHIESARA, P.VASSANELLI: Further studies on the inhibition and stimulation of microsomal drug-metabolizing enzymes of rat liver by various compounds.
Biochem. Pharmacol. 13; 69-83 (1964)

(18) KREYSZIG,E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen.
Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen, 2.Aufl. 1967

(19) MALLOV,S., T.J.BAESL: Effect of ethanol on rates of elimination and metabolism of zoxazolamine, hexobarbital and warfarin sodium in the rat. Biochem. Pharmacol. 21; 1667-1678 (1972)

(20) NYBÄCK,H. and G.SEDVALL: Effect of chlorpromazine and some of its metabolites on synthesis and turnover of catecholamines formed from ^{14}C-Tyrosine in mouse brain. Psychopharmacol. 26; 155-160 (1972)

(21) RATCLIFFE,F.: The effect of chronic ethanol administration on the growth of rats. Arch. int. Pharmacodyn. 197; 19-30 (1972)

(22) REMMER,H.: Die Beschleunigung von enzymatischen Oxydationen in den Lebermikrosomen unter dem Einfluß von Barbituraten. Arch. exp. Path. Pharmak. 236; 7-9 (1959)

(23) REMMER,H.: The role of the liver in drug metabolism. Amer. J. Med. 49; 617-629 (1970)

(24) REMMER,H., R.W.ESTABROOK, J.SCHENKMAN and H.GREIM: Reaction of drugs with microsomal liver hydroxylase: its influence on drug action. Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. exp. Path. 259; 98-115 (1968)

(25) REMMER,H., J.SCHENKMAN, R.W.ESTABROOK, H.SASAME, J.R.GILETTE, S.NARASIMHULU, D.Y.COOPER, O.ROSENTHAL: Drug interaction with hepatic microsomal cytochrome. Mol. Pharmacol. 2; 187-190 (1966)

(26) RUBIN,E., F.HUTTERER, C.S.LIEBER: Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing enzymes. Science 159; 1469-1470 (1968)

(27) RUBIN,E., H.GANG, P.MISRA, C.S.LIEBER: Inhibition of drug metabolism by acute alcohol intoxication: a hepatic microsomal mechanism. Amer. J. Med. 49; 801-806 (1970)

(28) RUBIN,E., C.S.LIEBER, A.P.ALVARES, W.LEVIN, R.KUNTZMAN: Ethanol binding to hepatic microsomes. Its increase by ethanol consumption. Biochem. Pharmacol. 20; 229-231 (1971)

(29) SCHNEIDER,G., G.SCHNEIDER: "Ileus" als Folge chronischer Gaben von Psychopharmaka bei der Ratte.
Pharmakopsychiat. 3; 273-292 (1970)

(30) SCHNEIDER,G., G.SCHNEIDER und M.H.BICKEL: Über das Auftreten von Desmethylimipramin im Gehirn der Ratte nach Gabe von Imipramin in Abhängigkeit von der Injektionsart.
Psychopharmacologia 16; 156-160 (1969)

(31) SCHÜPPEL,R.: Einfluß akuter Äthanoleinwirkung auf die N-Demethylierung zweier Arzneimittel bei der Ratte.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 257; 60-61 (1967)

(32) SCHÜPPEL,R.: Untersuchungen zur Spezifität äthanolbedingter Arzneistoffwechselstörungen.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 260; 197-198 (1968)

(33) SCHÜPPEL,R.: Alkohole als Inhibitoren der mikrosomalen N-Demethylierung in vitro.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 264; 302-303 (1969)

(34) SCHÜPPEL,R.: Hemmung der Hydroxylierung von Arzneimitteln in vivo unter Äthanolbelastung.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 265; 156-169 (1969)

(35) SCHÜPPEL,R.: Konjugationsreaktionen im Arzneistoffwechsel der Ratte unter akuter Äthanolbelastung.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 265; 233-243 (1969)

(36) SCHÜPPEL,R.: Wirkungen von Alkohol auf den Arzneistoffwechsel. In: Alcohol and the liver; 227-239, Edts. W. Gerok, K. Sickinger and H.H. Hennekeuser, F.K.-Schattauer-Verlag, Stuttgart (1971)

(37) SCHÜPPEL,R. und W.DÜRR: Die N-Demethylierung von Aminophenazon unter dem Einfluß verschiedener Alkohole.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. 263; 249 (1969)

(38) SCHÜPPEL,R., J.BREYER, J.STRELLER, K.SOEHRING:
Weitere Untersuchungen zum Arzneistoffwechsel der Ratte unter Äthanolbelastung.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. exp.Path. 257; 329-330 (1967)

(39) STÄUBLI,W., R.HESS and E.R.WEIBEL: Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. II. Effects of phenobarbital on rat hepatocytes.
J. cell. biology. 42; 92-112 (1969)

(40) UEHLEKE,H. und H.GREIM: Stimulierung der Oxydation von Fremdstoffen in Nierenmikrosomen durch Phenobarbital.
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak. exp.Path. 261; 152-161 (1968)

(41) VAPAATALO,H.J., J.E.IDÄNPÄÄN-HEIKKILA, P.J.NEUVONEN, M.K.PAASONEN: Effects of prolonged chlorpromazine treatment on the rat intestine.
Acta pharmacol. toxicol. 27; 262-268 (1969)

Herrn Professor Dr.med. H. Remmer danke ich für den mir zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz und das Überlassen des umfangreichen Materials.
Mein besonderer Dank gilt Fräulein Dozentin Dr.med. Dr. rer.nat. U. Breyer für die Anregung und Leitung der Arbeit sowie für ihre großzügige Unterstützung und die wertvollen Ratschläge.
Sehr dankbar bin ich Herrn Dozent Dr.med. Dr.rer.nat. R. Schüppel und Herrn Dr.med. H.J. Gaertner für ihre Beratung und ihre hilfreichen Anleitungen.
Fräulein J. Greiner, Herrn G. Joachim und Herrn W. Schneck habe ich für die technische Hilfe zu danken.

Lebenslauf

Am 20. Dezember 1947 wurde ich, Wilfried Junginger, als Sohn des Maximilian Junginger und der Ehefrau Hilde Junginger, geb. Sigwart, in Tübingen geboren. Die Reifeprüfung legte ich am 24. Oktober 1966 am mathematisch-naturwissenschaftlichen Kepler-Gymnasium in Tübingen ab. Nachdem ich vom 3. Januar 1967 bis 31. März 1968 meinen Wehrdienst abgeleistet hatte, begann ich zum Sommersemester 1968 mit dem Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Das vorklinische Studium beendete ich am 24. September 1970 mit der Ärztlichen Vorprüfung. Nach sechs klinischen Semestern legte ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen am 24. Januar 1974 das Medizinische Staatsexamen ab.